

Bindungen in isolierten Molekülen nicht ständig größer werden soll.

Eingegangen am 22. November 1976 [A 183]

- [1] J. C. Boivin, D. Thomas, G. Tridot, C. R. Acad. Sci. Ser. C 276, 1105 (1973).
[2] R. Arpe, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 426, 1 (1976).
[3] R. Arpe, Dissertation, Universität Kiel 1977.
[4] R. Arpe, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Naturforsch., im Druck.
[5] H.-D. Wasel-Nielen, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 375, 43 (1970).
[6] H. Klassen, R. Hoppe, Naturwissenschaften 63, 387 (1976).
[7] H.-P. Christian, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Naturforsch. B 30, 175 (1974).
[8] H. N. Migeon et al., Rev. Chim. Miner. 12, 203 (1975).
[9] R. Scholder, Angew. Chem. 70, 583 (1958).
[10] W. Klemm, G. Wehrmeyer, K. Bade, Z. Elektrochem. 63, 56 (1959).
[11] D. P. den Os, Dissertation, Universität Leiden 1962.
[12] R. Hoppe, H. Rieck, Z. Anorg. Allg. Chem. 379, 157 (1970).
[13] H. Rieck, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 392, 193 (1972).
[14] J. J. Scheer, Dissertation, Universität Leiden 1956.
[15] B. L. Dubey, J. A. Gard, F. P. Glasser, A. R. West, J. Solid State Chem. 6, 329 (1973).
[16] W. Uhlund, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 392, 23 (1972).
[17] K. Wahl, W. Klemm, Z. Anorg. Allg. Chem. 270, 69 (1952).
[18] K. Hestermann, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 367, 249 (1969).
[19] K. Hestermann, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 367, 261 (1969).
[20] H. Sabrowsky, R. Hoppe, Naturwissenschaften 53, 501 (1966).
[21] H. Sabrowsky, W. Bronger, D. Schmitz, Z. Naturforsch. B 29, 10 (1974).
[22] Hk. Müller-Buschbaum, H. Mattausch, Z. Anorg. Allg. Chem. 377, 144 (1970).
[23] C. Teske, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 379, 234 (1970).
[24] H. Pausch, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 426, 184 (1976).
[25] R. Kipka, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 419, 58 (1976).
[26] B. Grande, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Naturforsch. B 31, 405 (1976).
[27] R. Kipka, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 424, 1 (1976).
[28] R. Kipka, Dissertation, Universität Kiel 1977.
[29] B. Grande, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Naturforsch. B 31, 405 (1976).
[30] B. Grande, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 429, 88 (1977).
[31] C. Teske, Dissertation, Universität Gießen 1970.
[32] B. Grande, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 417, 68 (1975).
[33] B. Grande, Dissertation, Universität Kiel 1977.
[34] B. Grande, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem., im Druck.
[35] C. Teske, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 371, 325 (1969).
[36] C. Teske, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 379, 234 (1970).
[37] H.-D. Wasel-Nielen, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 375, 209 (1970).
[38] B. Grande, Diplomarbeit, Universität Kiel 1974.
[39] M. Foex, A. Nancheron, M. Line, C. R. Acad. Sci. 250, 3028 (1960).
[40] M. Foex, Bull. Soc. Chim. Fr. 1961, 109.
[41] R. Frushour, K. Vorres, A. E. C. Accession No. 46-246 Rept. Bo. TID-22-207, Paper E (1965).
[42] V. F. Sawschenko, Ya. S. Rubinschik, Vestn. Akad. Nauk Beloruss. SSR Ser. Khim. 1969, 44.
[43] Hk. Müller-Buschbaum, W. Wollschläger, Z. Anorg. Allg. Chem. 414, 76 (1975).
[44] W. Wollschläger, Diplomarbeit, Universität Kiel 1974.
[45] B. Grande, Hk. Müller-Buschbaum, M. Schweizer, Z. Anorg. Allg. Chem. 428, 120 (1977).
[46] M. Schweizer, Diplomarbeit, Universität Kiel 1975.
[47] C. Teske, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 370, 134 (1969).
[48] H. Drenkhahn, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 418, 116 (1975).
[49] J. Zemann (Wien), persönliche Mitteilung.
[50] J. J. Lander, J. Am. Chem. Soc. 73, 2450 (1951).
[51] J. J. Lander, L. A. Wooten, J. Am. Chem. Soc. 73, 2452 (1951).
[52] R. Hoppe (Gießen), persönliche Mitteilung.
[53] H. Mattausch, Diplomarbeit, Universität Kiel 1970.
[54] M. Arjomand, D. J. Machin, J. Chem. Soc. Dalton Trans. 1975, 1055.
[55] H. Krischner, K. Torkar, B. O. Kolbesen, J. Solid State Chem. 3, 349 (1971).
[56] R. Kipka, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 422, 231 (1976).
[57] R. v. Schenck, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Anorg. Allg. Chem. 396, 113 (1973).
[58] M. Wilhelm, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 409, 60 (1974).
[59] D. Cahen, J. A. Ibers, M. H. Mueller, Inorg. Chem. 13, 110 (1974).
[60] J. Waser, E. D. McClanahan, J. Chem. Phys. 19, 413 (1951); 20, 199 (1952).
[61] J. J. Scheer, A. E. van Arkel, R. Heyding, Can. J. Chem. 33, 683 (1955).
[62] R. C. Whuk, T. R. Tow, B. Post, IBM J. Res. Dev. 8, 185 (1964).
[63] O. Müller, R. Roy, Adv. Chem. Ser. 98, 28 (1971).
[64] D. Bergner, R. Kohlhaas, Z. Anorg. Allg. Chem. 401, 15 (1973).
[65] D. Cahen, J. A. Ibers, R. D. Shannon, Inorg. Chem. 11, 2311 (1972).
[66] H.-D. Wasel-Nielen, R. Hoppe, Z. Anorg. Allg. Chem. 375, 209 (1970).
[67] R. Kipka, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Naturforsch. B 31, 1067 (1976).
[68] B. Grande, Hk. Müller-Buschbaum, J. Inorg. Nucl. Chem. 39, 1084 (1977).
[69] R. Kipka, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Naturforsch. B 32, 121 (1977).
[70] R. Kipka, Hk. Müller-Buschbaum, Z. Naturforsch. B 32, 124 (1977).
[71] J. Zemann, Fortschritte Mineral. 39, 59 (1961).
[72] D. Cahen, J. A. Ibers, J. B. Wagner, Jr., Inorg. Chem. 13, 1377 (1974).
[73] Herrn Prof. Reinen danke ich für wertvolle Diskussionen zu diesem Problem.

Untersuchungen der mitochondrialen Adeninnucleotid-Translokation mit Nucleotidanalogen

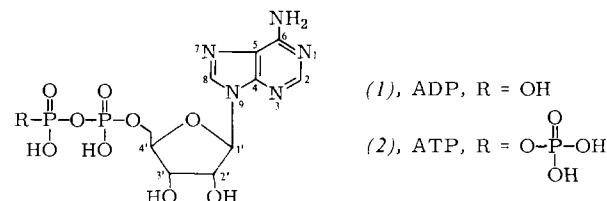
Von Eckhard Schlimme, Karl Siegfried Boos, Dubo Bojanovski und Joachim Lüstorff^[*]

ATP und ADP werden mit Hilfe eines Carriers (Translokators) durch die innere Membran der Mitochondrien befördert. Dieser Carrier ist ein in die innere Membran integriertes Lipoprotein. Der Durchtritt der Adeninnucleotide vollzieht sich in zwei Stufen: der spezifischen Bindung und dem eigentlichen Transport. An Substratanaloga mit modifiziertem Adenin-, Phosphat- oder Riboseteil lässt sich prüfen, welche Struktureigenschaften des Substrats für Bindung und Transport erforderlich sind.

1. Physiologische Bedeutung des Adeninnucleotid-Carriers

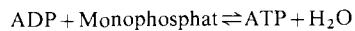
Vorgänge an Membranen sind für die Funktionsfähigkeit lebender Systeme von zentraler Bedeutung. Von besonderem

Interesse ist dabei der Stofftransport. So ist der Transfer der Adeninnucleotide Adenosin-5'-O-triphosphat (ATP) und Adenosin-5'-O-diphosphat (ADP) durch die innere Membran der Mitochondrien (Abb. 1a) der physiologische Schlüsselprozeß



[*] Prof. Dr. E. Schlimme, Dipl.-Biochem. K. S. Boos
Laboratorium für Biologische Chemie im Fachbereich Naturwissenschaften der Universität – Gesamthochschule –
Warburger Straße 100, Bauteil J, D-4790 Paderborn
Dr. D. Bojanovski, Dr. J. Lüstorff
Institut für Klinische Biochemie und Physiologische Chemie der Medizinischen Hochschule Hannover

im Energiestoffwechsel der aeroben Zelle. (Die äußere Membran ist für niedermolekulare Stoffe durchlässig und kann hier außer Betracht bleiben.) Bei diesem Transport^[1-4] wird ADP von der Cytosol- zur Matrixseite befördert, d. h. von „außen“ nach „innen“. In den Mitochondrien verläuft die oxidative Phosphorylierung gemäß



Durch diesen Phosphorylierungsprozeß wird die in zahlreichen katabolen Reaktionen freigesetzte Energie (Endoxidation) über die Atmungskette im ATP „chemisch gespeichert“. Kata-

rekatsäure, eine lipophile Tricarbonsäure aus *Pseudomonas cocovenenans*, das Transportsystem vornehmlich auf der Matrixseite hemmt ($K_D \approx 10^{-8} \text{ mol/l}$)^[2, 3]. Weitere Inhibitoren sind langketige Acyl-Coenzym-A-ester, vor allem Palmityl-Coenzym A^[12-18]. Ihre inhibierende Wirkung ist möglicherweise physiologisch für die Steuerung der Translokation bedeutsam.

Die Wirkungsweise der Inhibitoren wies auf einen aktiven Transport mit Hilfe eines Carriers hin. Dieses Molekül, welches isoliert und charakterisiert werden konnte^[19-29], ist integraler Bestandteil der inneren Membran (siehe Abschnitt 2). Der Anteil des Translokators am mitochondrialen Gesamtprotein



Abb. 1a. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Mitochondriums aus einer Zelle des Gallenblasenepithels der Maus. Äußere und innere Membran schließen den Intermembranraum ein, die innere – mit vielen Einbuchtungen (Cristae) versehene – Membran den Matrixraum. Das Mitochondrium ist vom Cytosol umgeben. Der eingeraumte Teil in der Abbildung ist ein Abschnitt der inneren Membran (siehe dazu Abb. 1b) (Aufnahme: Prof. Enrico Reale, Medizinische Hochschule Hannover, Abteilung Elektronenmikroskopie).

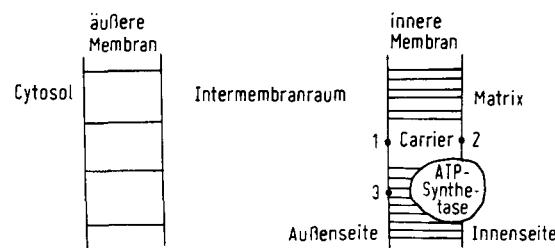


Abb. 1b. Schematisierter Ausschnitt der inneren Membran. 1: Carrier-abhängige (spezifische) Bindung von ATP und ADP auf der Außen-(Cytosol-)seite der Membran, Inhibitor ist Atractylosid; 2: Carrier-abhängige (spezifische) Bindung von ATP und ADP auf der Innen-(Matrix-)seite der Membran, Inhibitor ist Bongrekatsäure; 3: Carrier-unabhängige (unspezifische) Bindung von ATP und ADP auf der Außen-(Cytosol-)seite der Membran, durch Atractylosid nicht hemmbar.

lysiert wird diese Reaktion von der mit der Atmungskette gekoppelten ATP-Synthetase (F1-ATPase)^[5, 6], die auf der Matrixseite der inneren Membran lokalisiert ist. Im Gegenaustausch wird dann ATP von der Matrix- zur Cytosolseite transportiert, d. h. von „innen“ nach „außen“. Es findet somit ein Substrat/Produkt-Austausch durch die Membran statt.

Der Transport durch die Membran kann durch Inhibitoren spezifisch unterbunden werden (Abb. 1b). Atractylosid^[7] und Carboxyatractylosid, zwei cyclische Triterpenglykoside aus *Atractylis gummifera*, blockieren das Transportsystem auf der Cytosolseite ($K_D \approx 10^{-7}-10^{-8} \text{ mol/l}$)^[2, 3, 8-11], während Bong-

beträgt etwa 10 %^[19-29]. Einige Kenndaten dieses Transfersystems sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Der Adeninnucleotidcarrier transferiert ADP bevorzugt gegenüber ATP von der Cytosol- zur Matrixseite^[2, 3], dem Ort

Tabelle 1. Einige Kenndaten des mitochondrialen Adeninnucleotid-Translokators *in situ*.

Michaelis-Menten-Konstante (K_M) [30-33]

K_M (ADP extramitochondrial, 2-5°C): 10 μmol/l

K_M (ATP extramitochondrial, 2-5°C): 1-150 μmol/l [a]

Maximale Translokationsgeschwindigkeit V

[μmol min⁻¹ pro g mitochondrielles Protein] [30-33]

V(ADP): 5(2°C), 20(5°C)

V(ATP): 212°C, 7(5°C)

Wechselzahl (turnover) [2, 34]

40-60 min⁻¹ (2°C)

1600-2000 min⁻¹ (20°C)

Aktivierungsenergie [30, 31]

unter 10°C: 176 kJ/mol

über 10°C: 69 kJ/mol

Topologische Befunde

2×10^{13} Translokatormoleküle pro cm² Oberfläche (innere Mitochondrienmembran) [34]

Molares Verhältnis Translokator:Cytochrom a: 1.5-2.0:1 (Rattenlebermitochondrien); 2.5-3.0:1 (Rattenherzmitochondrien) [2]

[a] Abhängig vom Energiezustand des Mitochondriums [32].

der ATP-Synthese, während in umgekehrter Richtung offenbar eine ATP-Präferenz besteht^[35, 36]. Das Translokationssystem arbeitet somit asymmetrisch; die Asymmetrie beruht auf der unterschiedlichen Konformation des Carriers bei seiner Orientierung zur Cytosol- („c-Zustand“) und zur Matrixseite („m-Zustand“) der Membran^[26, 28].

Diese Eigenschaft des Carriersystems garantiert eine schnelle Nachregulierung vor allem des ATP-Spiegels im Cytosol. Die Aufrechterhaltung einer konstanten ATP-Konzentration ist Voraussetzung für einen störungsfreien Ablauf energieverbrauchender zellulärer Vorgänge. Diese sind entweder direkt mit ATP als Energieüberträger gekoppelt oder mit anderen Nucleosidtriphosphaten (GTP, ITP, CTP, UTP), zu deren Synthese wiederum ATP als Phosphorylgruppenüberträger benötigt wird. Treibende Kraft des jeweiligen Prozesses ist die freie Energie der Hydrolyse der Nucleosidtriphosphate. Unter Standardbedingungen (und bei pH = 7.0) beträgt ΔG für die Hydrolyse von ATP – 30.7 kJ/mol; dieser Wert kann unter zellulären Bedingungen stark vom Standardwert abweichen und auch zwischen den einzelnen Zellkompartimenten variieren.

Neben der Funktion als zentraler Energieüberträger der Zelle erfüllen Adeninnucleotide als allosterische Effektoren eine wichtige Aufgabe für die Regulation des Zellstoffwechsels und sind darüber hinaus Substrate für anabole Prozesse.

2. Struktur und Arbeitsweise des Carriers

Methoden zur Isolierung und in-vitro-Charakterisierung des mitochondrialen Adeninnucleotidcarriers wurden in den letzten Jahren in einigen Arbeitskreisen unabhängig voneinander entwickelt^[20, 21, 24, 25, 27]. Tabelle 2 gibt eine Übersicht.

Nach den experimentellen Befunden ist das aus der inneren Membran von Herz- und Lebermitochondrien isolierte Ma-

kromolekül (MG 29 000 bzw. 26 000) als Substrat- sowie Inhibitor-bindende Komponente wesentlicher Strukturbestandteil des Adeninnucleotidcarriers. Wahrscheinlich ist die dimere Form des isolierten Makromoleküls^[21, 23, 26, 27] der aktive Carrier^[26]. Seine Translokationsaktivität wird entscheidend durch Wechselwirkungen mit der hydrophoben Lipidumgebung geprägt. Der Carrier ist ein Lipoprotein^[27, 37, 38] folgender Zusammensetzung: Protein (85 %), Phospholipide (14 %) und Triglyceride (1 %)^[27, 38]; Röntgen-Kleinwinkelmessungen am isolierten Makromolekül^[39] weisen auf eine membranüberbrückende Struktur hin mit einer maximalen Länge von 7.3 nm und einem Querschnittsradius von 3.1 nm.

Die von diesem Carriersystem (C) katalysierte Translokation der Substrate (S) ATP und ADP vollzieht sich in einer Reaktionsfolge der Art



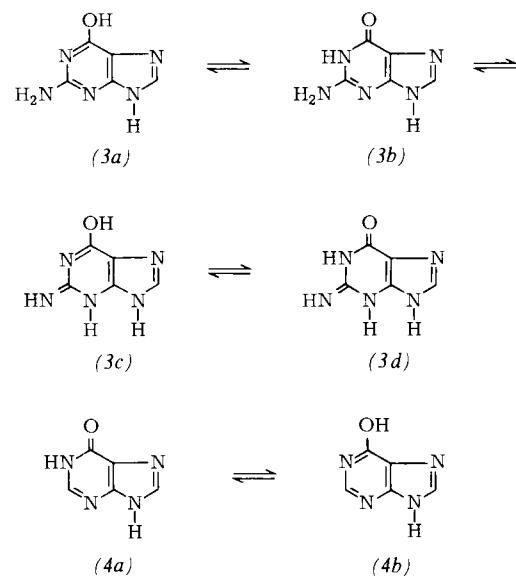
Auf beiden Seiten der Membran (a = außen; i = innen) finden Assoziations- oder Dissoziationsreaktionen statt. Der Substrattransport in der Membran kann prinzipiell auf zwei Wege erfolgen. Zum einen kann der Nucleotid-Carrier-Komplex in der Membran rotieren (Rotationsmechanismus), wodurch das Nucleotid auf die andere Seite der Membran gelangt. Zum anderen kann das Nucleotid durch eine Konformationsänderung des Nucleotid-Carrier-Komplexes von der einen zur anderen Seite der Membran durch einen Kanal (Porenmechanismus) transferiert werden. Beide Prozesse sind energieabhängig^[26, 29, 40, 41]. Generelle Vorstellungen über Membrantransferreaktionen^[42–44] sowie die bisherigen Kenntnisse über die Struktur des mitochondrialen Adeninnucleotidcarriers^[27–29, 38–41] sprechen für einen „Porenmechanismus“ beim Transport von ATP und ADP durch die innere Mitochondrienmembran.

Tabelle 2. Zur Isolierung und Charakterisierung des mitochondrialen Adeninnucleotid-Translokators.

Lösungsmittel	Isolierungstechnik	Molekulargewicht	Charakterisierung	Lit.
<i>Herzmitochondrien (Rind)</i>				
Cholat	Ammoniumsulfat-fraktionierung	29 000	Einbau des isolierten Proteins in Phospholipidvesikel; dabei Rekonstitution der Austauschaktivität für ATP und ADP	[19, 25]
<i>Lebermitochondrien (Ratte)</i>				
Triton X 100	Lösen der Mitochondrien nach Bindung von Carboxyatractylosid; Säulenchromatographie über Hydroxylapatit und Agarose	29 000 Carboxyatractylosid-bindendes Protein: MG 55 000 (Dimer)	Bindung von Carboxyatractylosid; Carboxyatractylosid spezifisch durch Bongrekatsäure und ADP austauschbar; immunologische Differenzierung der c- und m-Konformationen des Translokators	[22, 24, 26, 28]
Brij 56	Lösliche Proteinfraktion im Ausschlußvolumen von Sephadex G 25		Atractylosid-empfindliche Bindung von ADP	[20]
Triton X 100, Emulphogen BC 720	Affinitätschromatographie über Atractylosid-Agarose	50 000 bis 60 000	Bindung von Atractylosid	[21]
Na-Dodecylsulfat	Affinitätschromatographie über Carboxyatractylosid-Agarose	26 000 60 000 (Dimer)	Bindung von Atractylosid sowie Hemmung der ATP/ADP-Translokation mit Antikörpern des isolierten Translokator-Proteins in Digitoninpartikeln	[23, 27]

3. Substratspezifität des Carriers

Das Carriersystem ist hochspezifisch für ATP und ADP. Die natürlich vorkommenden Ribo- und Desoxyribonucleosid-5'-O-tri(di)phosphate des Guanins (3), GTP, GDP und dGTP, dGDP, des Hypoxanthins (4), ITP, IDP und dITP, dIDP, des Uracils, UTP, UDP und des Thymins dTTP, dTDP und des Cytidins, CTP, CDP und dCTP, dCDP, sind keine



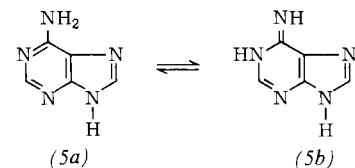
Substrate für den mitochondrialen Nucleotid-Transport^[2, 20, 45]. Diese Befunde stellen nochmals die bereits ge-

nannte Aufgabe des ATP als intermediärer Phosphorylgruppenüberträger der aeroben Zelle heraus.

Zur Erfassung der Wechselwirkungen zwischen Nucleotid und membranintegriertem Carrier sind – wie auf dem Gebiet enzymkatalysierter Reaktionen^[46, 47] – Substratanaloga besonders geeignet. Vor allem sind es solche Analoga, die vom Carriermolekül zwar gebunden, aber nicht transportiert werden können. Mit derartigen Analoga wird die Zweistufigkeit des Prozesses (Bindung und Transport) experimentell nachprüfbar; außerdem kann gezeigt werden, welche strukturellen^[48, 49] Eigenschaften des Adeninnucleotidmoleküls für die spezifische Bindung (erster Schritt) und welche möglicherweise zusätzlich für die Auslösung des Transfers (zweiter Schritt) erforderlich sind.

3.1. Basenmodifizierte Substratanaloga

Ein Austausch des Adenins (5) im Nucleotid-tri(di)phosphat durch andere Purin- und Pyrimidinbasen führt, wie bereits erwähnt, zum Verlust der spezifischen Bindung an den Carrier.



Der Grund mag neben der unterschiedlichen Substitution auch die Elektronenverteilung in den heterocyclischen Systemen sein. Guanin (3) und Hypoxanthin (4) liegen in wässriger

Tabelle 3. Substrate und basenmodifizierte Substratanaloga vom Typ

	Base H-(PO ₃ H) _n -Ribose	n	Konformation (vgl. Abb. 2)	Bindung [%] [a]	Translokator Transportge- schwindigkeit [b]	Bemerkungen
(1)		2, ADP	$\begin{cases} anti > syn [51-60] \\ N (47\%) \rightleftharpoons S (53\%) \end{cases}$	100 [1, 2]	20 [1, 2]	
(2)		3, ATP	$gg > tg, gt$	100 [1, 2]	7 [1, 2]	
(6)		2		50 [61-64]	0.6 [61, 62], -[63, 64] [c]	(6) ist kein Substrat der oxidativen Phosphorylierung [49, 63]. (6) und (8) sind Substrate des CF1-Kopplungsfaktors der Photophosphorylierung in Chloroplasten [66]
(7)		3				
(8)		2				
(9)		3		-[65]	-[65]	
(10)		2		+ [67, 68]	[67], + [68]	(11) wird von F1-ATPase dephosphoryliert [68]. (10) ist Substrat des CF1-Kopplungsfaktors [69]
(11)		3				
(12)		2, R = Br	$syn [51, 57, 70, 71]$	30 [48]	- [48]	(12) ist kein Substrat in der Photophosphorylierungsreaktion [66]. (14) und (15) zeigen lichtabhängige irreversible Bindung an den Translokator und blockieren den ATP/ADP-Austausch [72]
(13)		3, R = Br	$\{\phi = +120^\circ\} [58]$			
(14)		2, R = N ₃	$tg \approx gt > gg$	+ [72]	- [72]	
(15)		3, R = N ₃				

[a] Unter Sättigungsbedingungen (5 °C) mit 1,6 μmol pro g mitochondriales Protein = 100%. + bedeutet: wird gebunden; – bedeutet: wird nicht gebunden.

[b] Maximale Translokationsgeschwindigkeit für extern angebotene Nucleotide (5 °C) [$\mu\text{mol min}^{-1}$ pro g mitochondriales Protein]. + bedeutet: wird transportiert; – bedeutet: wird nicht transportiert.

[c] Ergebnisse beruhen nicht auf Messungen mit radioaktiv markierten Analoga.

Lösung in der Lactamform (3b) bzw. (4a) vor, Adenin hingegen in der Aminoform (5a)^[50, 51]. Wegen der Lage der Tautomeriegleichgewichte und der Ionisierung in wäßriger Phase (pK_a -Werte)^[50, 51] bestehen große physikalische Unterschiede zwischen Adenin einerseits und Guanin und Hypoxanthin andererseits.

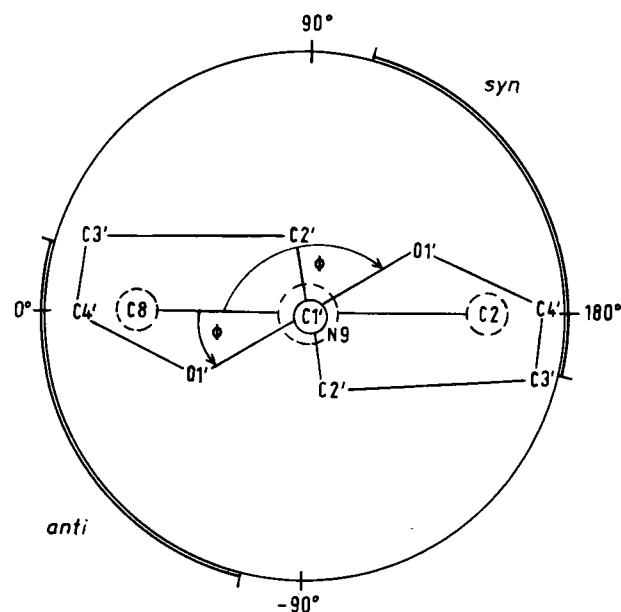


Abb. 2a. Die Position der Purinbase relativ zum Zucker wird durch den Torsionswinkel ϕ ($O1'-C1'-N9-C8$) beschrieben (vgl. Abb. 3a). Die Base kann *syn*- oder *anti*-Konformation einnehmen, wobei der Winkel ϕ für eine *syn*-Konformation mit $150 \pm 45^\circ$ und für eine *anti*-Konformation mit $-30 \pm 45^\circ$ definiert ist [51, 52].

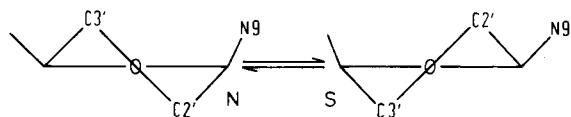


Abb. 2b. Die Pseudorotation („puckering“) des Ribofuranoseringes wird durch das Konformerengleichgewicht $N(C2'-exo, C3'-endo) \rightleftharpoons S(C2'-endo, C3'-exo)$ beschrieben [51, 53–56].

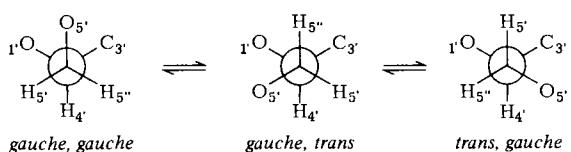


Abb. 2c. Die Newman-Projektion entlang der exocyclischen $C5'-C4'$ -Bindung zeigt die drei Rotamerpositionen *gauche, gauche* (gg), *gauche, trans* (gt) und *trans, gauche* (tg) [51, 53–56].

In Abbildung 2 sind Bezugssysteme für die Anordnung von Heterocyclus und Zuckerrest angegeben. Die Bedeutung der intakten Adeninbase für die Bindung an das Carriermolekül und/oder für die Transferreaktion zeigt sich in Untersuchungen basenmodifizierter Adeninnucleotidanaloge. Eine Zusammenstellung findet sich in Tabelle 3.

3.2. Substratanaloga mit modifizierter Phosphatkette

Für eine carrierspezifische Bindung der Adeninnucleotide ATP ($pK_a = 6.97$ für ATP^{4-}/ATP^{3-}) und ADP ($pK_a = 6.65$

für ADP^{3-}/ADP^{2-}) werden minimal drei negative Ladungen benötigt^[34]. Adenosin-5'-O-monophosphat (AMP) wird daher im Gegensatz zu Adenosin-5'-O-di-, -tri- und -tetraphosphat vom Adeninnucleotidcarrier nicht translokiert^[45]. Strukturelle Veränderungen in der Phosphatkette, die die Zahl der Ladungen nicht beeinflussen, werden dagegen vom Carriermolekül in weit größerem Maße toleriert als Veränderungen in der Base (Tabelle 4).

3.3. Substratanaloga mit modifiziertem Zuckerteil

Das $N \rightleftharpoons S$ -Gleichgewicht (Pseudorotation, „puckering“; vgl. Abb. 2) des Riboseringes^[51, 53–56] ist von entscheidendem Einfluß auf die Nucleotidkonformation^[51, 54–56]. Aus diesem Grunde gibt das Verhalten von Adeninnucleotidanaloge mit modifiziertem Zuckerteil (Tabelle 5) wertvolle Hinweise auf die Bedeutung der Nucleotidkonformation für die Wechselwirkung von ATP und ADP mit dem mitochondrialen Adeninnucleotidcarrier.

4. Folgerungen aus den Studien mit Substratanaloga

Welche Folgerungen lassen sich nun über die molekularen Anforderungen des membranintegrierten Carriers gegenüber seinem Substrat aus den in den Tabellen 3 bis 5 zusammengefaßten Befunden ziehen?

Für die spezifische Bindung des Nucleotids auf der Cytosolseite an den Carrier sind Modifizierungen in der Phosphatkette ohne großen Einfluß, wenn die Zahl der negativen Ladungen unverändert bleibt. Strukturelle Veränderungen am Adenin werden toleriert, solange der Adenincharakter des Heterocyclus einschließlich der Aminogruppe an C6 erhalten bleibt, was vor allem aus dem Vergleich der strukturisomeren Analoga (6) bis (9) (Tabelle 3) zu schließen ist. So wird zwar nach Substitution des C8-Wasserstoffs wie in (12) bis (15) (Tabelle 3) die *syn* \rightleftharpoons *anti*-Isomerisierung der Nucleobase (Abb. 2) aufgehoben und eine sterisch bedingte Stellung des Heterocyclus im Bereich der *syn*-Konformation erhalten^[51, 57, 70, 71], die carrierspezifische Bindung geht aber nicht verloren. Wird aber der Zucker mit der Adeninbase kovalent verknüpft wie in (36) bis (39) (Tabelle 5), so kommt es zu einer Fixierung der Nucleobase relativ zum Zucker. Durch diese fixierte Position der Base sind bei (36) bis (39) im Vergleich zu (12) bis (15) hydrophobe Wechselwirkungen zwischen dem Carriermolekül und dem Nucleotid im aktiven Zentrum nur in verminderter Maße ausgebildet, so daß die Analoga (36) und (37) nur sehr schwach und die Analoga (38) und (39) gar nicht mehr spezifisch gebunden werden. Ein Austausch der 3'- [(28) und (29)] oder der 2-Hydroxylgruppe [(30) und (31)] durch Wasserstoff bleibt qualitativ auf die spezifische Bindung ebenso ohne Einfluß wie eine Inversion der *trans*-ständigen 2'-Hydroxyl- oder auch der 3'-Hydroxylgruppe der Ribose in die jeweilige *cis*-Konfiguration [(40) und (41) sowie (42) und (43)] oder wie die Aufspaltung der $C2'-C3'$ -Bindung des Riboseringes in (26) und (27). Werden aber beide Hydroxylgruppen chemisch blockiert [(32) bis (35)] oder liegt Inversion an C4' vor [(44) und (45)], so geht die spezifische Bindung völlig verloren.

Zur Frage, in welcher Weise der erste Schritt der Bindung eines Nucleotids mit dem zweiten Schritt des Nucleotidtrans-

Tabelle 4. Substrate und phosphatkettenmodifizierte Substratanaloga vom Typ

Nucleotid ②	Struktur der Phosphatkette	Translokator Bindung [%] [a]	Transport- geschwindig- keit [b]	Bemerkungen
(2)		P—O = 1.61 Å [47] P—C = 1.79 Å [47]	100 [1, 2] + [73]	7 [1, 2] (16) wird von der F1-ATPase weder oxidativ phosphoryliert [c] noch werden (17) und (18) dephosphoryliert [73]
(16)		P—C = 1.79 Å [47] P—C—P = 117° [47]	+ [73]	+ [73]
(17)				
(18)				
(19)		P—N = 1.68 Å [47] P—N—P = 127° [47]	+ [74, 75]	+ [74, 75] (19) wird von der F1-ATPase nicht dephosphoryliert, hemmt aber die Dephosphorylierung von ATP kompetitiv, nicht aber die ADP-Phosphorylierung [76]
(20)		P—P = 3 Å [47]	+ [77]	+ [77] (20) ist kein Substrat der F1-ATPase [77] [d]
(21)			+ [78]	- [78]
(22)		Van-der-Waals-Radien: O = 1.40 Å S = 1.83 Å		
(23)		Elektronegativitäten: O = 3.5 S = 2.5	+ [49, 79]	10 [49, 79]
(24)		Thion Thiol P=S>P—SH		
(25)				

[a, b] Vgl. Fußnoten zu Tabelle 3.

[c] Mögliche Erklärung: In (16) ist P² weniger elektrophil als in ADP; außerdem ist in (16) die P—C-Bindung länger als die entsprechende P—O-Bindung in ADP.

[d] Mögliche Erklärung: In (20) ist P² weniger elektrophil als in ADP; außerdem ist in (20) die P—P-Bindung kürzer als die entsprechende P—O-Bindung in ADP.

[e] Die Trennung der beiden Diastereoisomere gelang enzymatisch [46, 83] und flüssigkeitschromatographisch [84]. Die Bestimmung der absoluten Konfiguration steht noch aus.

fers molekular gekoppelt ist, lassen sich folgende Gesichtspunkte anführen:

Adeninnucleotidanaloge, die als *syn*-Konformere vorliegen, werden zwar noch vom Carrier gebunden, lösen aber keinen Transfer durch die Membran aus. Die Analoga (36) und (37) mit kovalent fixiertem Adeninring im *syn/anti*-Grenzbe-

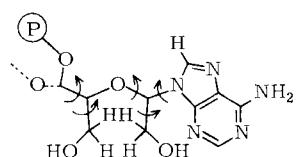


Abb. 3b. Konformation von (27). P = H—(PO₃H)₃.

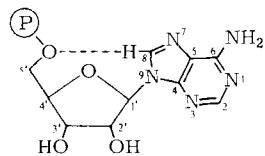


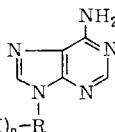
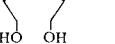
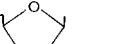
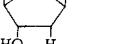
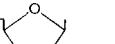
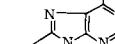
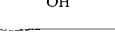
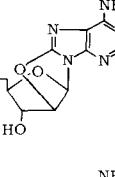
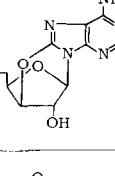
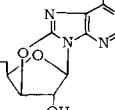
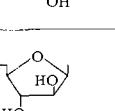
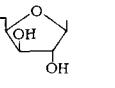
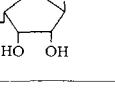
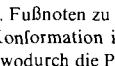
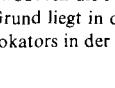
Abb. 3a. Konformation von ATP. P = H—(PO₃H)₃.

reich werden nach Bindung ebensowenig transferiert wie die Analoga (38) und (39) mit kovalent fixierter *anti*-Konformation. Für die Auslösung des zweiten Schrittes des Translokationsvorganges muß demnach eine gewisse Rotationsfreiheit um die C1—N9-Bindung im *anti*-Bereich ($-30 \pm 45^\circ$, vgl. Abb. 2) vorliegen.

Der Einfluß der Konformation auf den Adeninnucleotidtransport wird an den Analoga (26) und (27) sichtbar. Hier handelt es sich um gegenüber den natürlichen Substraten chemisch nahezu unveränderte Adeninnucleotide. In ihrer

Konformation dagegen unterscheiden sich die Analoga sehr deutlich vom Substrat. Die Ringöffnung der Ribose verhindert die Stabilisierung der *anti-gauche,gauche*-Konformation, in welcher ADP und ATP bevorzugt vorliegen (Abb. 3a). Das

Tabelle 5. Substrate und zuckermodifizierte Substratanaloga vom Typ

Nucleotid R	n	Konformation (vgl. Abb. 2)	Translokator Bindung [%] [a]	Transport- geschwindig- keit [b]	Bemerkungen
(26) 	2	$\text{N} \rightleftharpoons \text{S}$ -Gleichgewicht aufgehoben; weder <i>syn</i> - noch <i>anti</i> -Stellung der Adeninbase bevorzugt; keine Rotationshinderung um C1'-C2'- sowie C4'-C3'-Achse [86]	15 [33, 62, 85]	- [33, 62, 85]	(26) wird an den CF1-Kopplungsfaktor gebunden, aber nicht photophosphoryliert [87]
(27) 	3				
(28) 	2	<i>anti > syn</i> [c] Gleichverteilung der rotameren Einstellungen $gg \approx tg \approx gt$ [55, 56]	50 [88, 89]	3 [88, 89]	(28) ist Substrat der F1-ATPase [90] und des CF1-Kopplungsfaktors [87]
(29) 	3				
(30) 	2	<i>anti > syn</i> [c] $\text{N} (29\%) \rightleftharpoons \text{S} (71\%)$ $gg < tg \approx gt$ [55, 56]	30 [88, 89]	- [88, 89]	(30) ist kein Substrat der oxidativen Phosphorylierung [90], wird jedoch vom CF1-Kopplungsfaktor photophosphoryliert [87]
(31) 	3				
(32) 	2	Eingeschränkte Pseudorotation der Ribose [91, 92]			
(33) 	3				
(34) 	2		- [90]	- [90]	
(35) 	3				
(36) 	2	Starre Fixierung der Adeninbase im <i>syn/anti</i> -Grenzbereich \equiv „high“- <i>anti</i> ($\phi = -122^\circ$) [96]	20 [89, 95]	- [89, 95]	
(37) 	3	<i>C2'-endo, gt</i> bevorzugt Starre Fixierung der Adeninbase in einer <i>anti</i> -Position ($\phi = -72^\circ$) [98] <i>C3'-endo, gt</i> bevorzugt			
(38) 	2		- [89, 97]	- [89, 97]	
(39) 	3				
(40) 	2	<i>anti > syn</i> [58, 99]	12 [89, 90]	- [89, 90]	
(41) 	3	<i>gt > gg, tg</i>			
(42) 	2	<i>anti > syn</i> [100]	9 [89]	- [89]	
(43) 	3	<i>C3'-endo, gt</i> bevorzugt			
(44) 	2	<i>anti > syn</i> [89]	- [89]	- [89]	
(45) 	3	<i>C2'-endo, tg</i> bevorzugt			

[a, b] Vgl. Fußnoten zu Tabelle 3.

[c] *anti*-Konformation in (28) und (29) ist durch elektrostatische Wechselwirkung zwischen C2'-OH und N3 stabilisiert; diese Stabilisierung fehlt in (30) und (31), wodurch die Position der Adeninbase nach *syn* verschoben ist ($\phi = -63^\circ$) [58].

[d] Der Grund liegt in der durch die Lipophilie von (32) und (34) bedingten Einlagerung in lipophile Bereiche der Mitochondrienmembran, die die Aktivität des Translokators in der Membran reduziert.

Analogon (27) (Abb. 3b) ist in seiner Struktur wesentlich flexibler; die dem natürlichen Substrat äquivalente Konformation stellt sich im Carrier-Nucleotid-Komplex aus energetischen Gründen nicht mehr ein, und der Transfer unterbleibt^[33].

Bei der Auslösung des Transfers kommt darüber hinaus der 2'-Hydroxylgruppe – sehr wahrscheinlich über eine Wasserstoffbrückenbindung zur komplementären Position des Carriermoleküls – eine entscheidende Funktion zu: die Gruppe muß *trans*-ständig vorliegen. Wie (40) und (41) zeigen, kann die in der *cis*-Konfiguration angeordnete 2'-Hydroxylgruppe diese Funktion nicht ausüben. Dagegen wird die Substitution der 3'-Hydroxylgruppe durch Wasserstoff wie in (28) und (29) toleriert.

Wir danken allen, die uns durch Anregungen und Kritik geholfen haben. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Landesamt für Forschung Nordrhein-Westfalen und dem Fonds des Verbandes der Chemischen Industrie gilt unser Dank für finanzielle Förderung. Besonderer Dank gilt nicht zuletzt Herrn Professor Walther Lamprecht, der uns während der Paderborner Aufbauphase volle Arbeitsmöglichkeiten in Hannover erhalten hat.

Eingegangen am 8. Oktober 1976 [A 172]

- [1] M. Klingenberg, E. Pfaff in J. M. Tager, S. Papa, E. Quagliariello, E. C. Slater: Regulation of Metabolic Processes in Mitochondria. Biochim. Biophys. Library Bd. 7. Elsevier, Amsterdam 1966, S. 180.
- [2] P. V. Vignais, P. M. Vignais, G. Lauquin, F. Morel, Biochimie 55, 763 (1973).
- [3] M. Klingenberg, B. Scherer, L. Stengel-Rutkowski, M. Buchholz, K. Grebe in G. F. Azzone, L. Ernster, S. Papa, E. Quagliariello, N. Siliprandi: Mechanisms in Bioenergetics. Academic Press, London 1973, S. 257.
- [4] A. Kemp jr., T. A. Out, Proc. K. Ned. Akad. Wet. Ser. C, 78, Nr. 2, S. 143, 155 (1975).
- [5] E. C. Slater, 6th Keilin Memorial Lecture, Meeting Biochem. Soc., Cambridge (UK) 1974, Bd. 2, S. 1149.
- [6] E. C. Slater, J. Rosing, D. A. Harris, R. O. van de Stadt, A. Kemp jr. in G. F. Azzone, M. Klingenberg, E. Quagliariello, N. Siliprandi: Membrane Proteins in Transport and Phosphorylation. North-Holland, Amsterdam 1974, S. 137.
- [7] M. Lefranc, C. R. Acad. Sci. 67, 954 (1868).
- [8] R. Santi, M. Bistocchi, A. Bruni, Proc. 4. Int. Congr. Biochem., Wien 1958.
- [9] A. Bruni, S. Luciani, A. R. Contessa, Nature 201, 1219 (1964).
- [10] E. Pfaff, M. Klingenberg, H. W. Heldt, Biochim. Biophys. Acta 104, 312 (1965).
- [11] H. H. Winkler, A. L. Lehninger, J. Biol. Chem. 243, 3000 (1968).
- [12] L. Wojtczak, H. Zaluska, Biochem. Biophys. Res. Commun. 28, 76 (1967).
- [13] S. V. Pande, M. C. Blanchar, J. Biol. Chem. 246, 402 (1971).
- [14] A. Shug, E. Lerner, C. Elson, E. Shrago, Biochem. Biophys. Res. Commun. 43, 557 (1971).
- [15] R. A. Harris, B. Farmer, T. Ozawa, Arch. Biochem. Biophys. 150, 199 (1972).
- [16] W. J. Vaartjes, A. Kemp jr., J. H. M. Souverijn, S. G. Van den Bergh, FEBS Lett. 23, 303 (1972).
- [17] F. Morel, G. Lauquin, J. Lunardi, J. Duszynski, P. V. Vignais, FEBS Lett. 39, 133 (1974).
- [18] C. H. Ho, S. V. Pande, Biochim. Biophys. Acta 369, 86 (1974).
- [19] H. G. Shertzer, E. Racker, J. Biol. Chem. 249, 1320 (1974).
- [20] R. W. Egan, A. L. Lehninger, Biochem. Biophys. Res. Commun. 52, 195 (1974).
- [21] G. Brandolin, C. Meyer, G. Defaye, P. M. Vignais, P. V. Vignais, FEBS Lett. 46, 149 (1974).
- [22] M. Klingenberg, P. Riccio, H. Aquila, B. Schmiedt, K. Grebe, P. Topitsch in G. F. Azzone, M. Klingenberg, E. Quagliariello, N. Siliprandi: Membrane Proteins in Transport and Phosphorylation. North-Holland, Amsterdam 1974, S. 229.
- [23] D. Bojanowski, E. Schlimme, C. S. Wang, P. Alaupovic, Abstr. Commun. 11th Meeting Fed. Eur. Biochem. Soc. Paris 1975, Nr. 1156.
- [24] P. Riccio, H. Aquila, M. Klingenberg, FEBS Lett. 56, 129, 133 (1975).
- [25] H. G. Shertzer, E. Racker, J. Biol. Chem. 251, 2446 (1976).
- [26] M. Klingenberg, H. Aquila, P. Riccio, B. B. Buchanan, W. Eiermann, H. Hackenberg in E. Quagliariello, S. Papa, F. Palmieri, E. C. Slater, N. Siliprandi: Electron Transfer Chains and Oxidative Phosphorylation. North-Holland, Amsterdam 1975, S. 431.
- [27] D. Bojanowski, E. Schlimme, C. S. Wang, P. Alaupovic, Eur. J. Biochem. 71, 539 (1976).
- [28] B. B. Buchanan, W. Eiermann, P. Riccio, H. Aquila, M. Klingenberg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 2280 (1976).
- [29] P. V. Vignais, Biochim. Biophys. Acta 456, 1 (1976).
- [30] E. D. Duée, P. V. Vignais, J. Biol. Chem. 244, 3920 (1969).
- [31] E. Pfaff, H. W. Heldt, M. Klingenberg, Eur. J. Biochem. 10, 484 (1969).
- [32] J. H. M. Souverijn, P. J. Weijers, G. S. P. Groot, A. Kemp jr., Biochim. Biophys. Acta 305, 185 (1970).
- [33] K. S. Boos, E. Schlimme, D. Bojanowski, W. Lamprecht, Eur. J. Biochem. 60, 451 (1975).
- [34] M. Klingenberg, Essays Biochem. 6, 119 (1970).
- [35] J. Duszynski, L. Wojtczak, Abstr. 10 IUB Congr. Biochem., Hamburg 1976, S. 347.
- [36] M. Klingenberg, Ciba Found. Symp. 31, 105 (1975).
- [37] T. L. Spencer, J. K. See, F. L. Bygrave, Biochim. Biophys. Acta 423, 365 (1976).
- [38] D. Bojanowski, E. Schlimme, M. Bojanowski, C. S. Wang, P. Alaupovic, W. Folkhard, I. Pilz in H. Peters: Protides of Biological Fluids. Proc. 25th Colloquium. Pergamon Press, Oxford, im Druck.
- [39] W. Folkhard, I. Pilz, D. Bojanowski, E. Schlimme, noch unveröffentlicht.
- [40] H. Aquila, W. Eiermann, M. Klingenberg, Abstr. Symp. Biochem. Membrane Transport, Zürich 1976, P 400, S. 62.
- [41] M. Klingenberg, H. Aquila, R. Krämer, Abstr. Symp. Biochem. Membrane Transport, Zürich 1976, L 44, S. 21.
- [42] J. S. Singer, G. L. Nicolson, Science 175, 720 (1972).
- [43] J. S. Singer, Annu. Rev. Biochem. 43, 805 (1974).
- [44] A. Dutton, E. D. Rees, J. S. Singer, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 1532 (1976).
- [45] M. Weidemann, J. J. Erdelt, M. Klingenberg, Eur. J. Biochem. 16, 313 (1970).
- [46] F. Eckstein, Angew. Chem. 87, 179 (1975); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 14, 160 (1975).
- [47] R. Yount, Adv. Enzymol. 43, 1 (1975).
- [48] E. Schlimme, K. W. Stahl, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 355, 1139 (1974).
- [49] E. Schlimme, W. Lamprecht, F. Eckstein, R. W. Goody, Eur. J. Biochem. 40, 485 (1973).
- [50] Y. P. Wong, K. L. Wong, D. R. Kearns, Biochem. Biophys. Res. Commun. 49, 1580 (1972).
- [51] P. O. P. Tso: Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry. Academic Press, New York 1974, Bd. 1, S. 453ff.
- [52] J. Donohue, K. N. Trueblood, J. Mol. Biol. 2, 363 (1960).
- [53] H. D. Lüdemann, O. Röder, E. Westhof, E. von Goldammer, A. Müller, Biochem. Struct. Mechanism 1, 121 (1975).
- [54] C. H. Lee, F. E. Evans, R. H. Sarma, J. Biol. Chem. 250, 1290 (1975).
- [55] D. B. Davies, S. S. Danyluk, Biochemistry 13, 4417 (1974).
- [56] D. B. Davies, S. S. Danyluk, Biochemistry 14, 543 (1975).
- [57] S. S. Tavale, H. M. Sobell, J. Mol. Biol. 48, 109 (1970).
- [58] M. Sundaralingam, Ann. N. Y. Acad. Sci. 255, 3 (1975).
- [59] W. Saenger, Angew. Chem. 85, 680 (1973); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 12, 591 (1973).
- [60] O. Kennard, N. W. Isaacs, J. C. Coppola, A. J. Kirby, S. Warren, W. D. S. Motherwell, D. G. Watson, D. L. Wampler, D. H. Chinery, A. C. Larson, K. A. Kerr, L. Riva di Sanseverino, Nature 225, 333 (1970).
- [61] E. Schlimme, G. Schäfer, FEBS Lett. 20, 659 (1972).
- [62] E. Schlimme, Nieders. Ärztebl. 46, 656 (1973).
- [63] G. Jebeleanu, N. G. Ty, H. H. Mantsch, O. Bârzu, G. Niac, I. Abrudan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 4630 (1974).
- [64] H. H. Mantsch, J. Goia, M. Kedzi, O. Bârzu, M. Dansoreanu, G. Jebeleanu, N. G. Ty, Biochemistry 14, 5593 (1976).
- [65] E. Schlimme, W. Fröhlich, unveröffentlichte Ergebnisse (1977).
- [66] H. Strotmann, S. Bickel-Sandkötter, K. Edelmann, J. Lüstorff, E. Schlimme, K. S. Boos, F. Eckstein, noch unveröffentlicht.
- [67] M. Klingenberg, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 355, 759 (1974).
- [68] R. S. Kaplan, P. S. Coleman, FEBS Lett. 63, 179 (1976).
- [69] D. Vandermeulen, Goovindjee, FEBS Lett. 57, 272 (1975).
- [70] J. M. Delabar, W. Guschlbauer, Biochimie 54, 1041 (1972).
- [71] E. Westhof, O. Röder, J. Croneiss, H. D. Lüdemann, Z. Naturforsch. 30 C, 131 (1975).
- [72] G. Schäfer, E. Schräder, G. Rowohl-Quishoudt, S. Penades, M. Rimpler, FEBS Lett. 64, 185 (1976).
- [73] E. D. Duée, P. V. Vignais, Biochem. Biophys. Res. Commun. 30, 546 (1968).
- [74] R. G. Yount, D. Babcock, D. Ojala, W. Ballantyne, Biochemistry 10, 2484 (1971).
- [75] M. Klingenberg, K. Grebe, B. Scherer, FEBS Lett. 16, 253 (1971).
- [76] H. Penefsky, J. Biol. Chem. 249, 3579 (1974).
- [77] P. V. Vignais, J. Setondji, J. P. Ebel, Biochimie 53, 127 (1971).

- [78] K. W. Stahl, E. Schlimme, F. E. Köster, Naturwissenschaften 61, 38 (1974).
- [79] E. Schlimme, G. Schäfer, R. S. Goody, F. Eckstein in G. F. Azzone, L. Ernster, S. Papa, E. Quagliariello, N. Siliprandi: Mechanisms in Bioenergetics. Academic Press, London 1973, S. 89.
- [80] J. Lüstorff, E. Schlimme, F. Eckstein, W. Lamprecht, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 355, 1400 (1974).
- [81] J. Lüstorff, K. S. Boos, E. Schlimme, Abstr. 10 IUB Congr. Biochem., Hamburg 1976, S. 338.
- [82] J. Lüstorff, Dissertation, Technische Universität Hannover 1976.
- [83] F. Eckstein, R. S. Goody, Biochemistry 15, 1685 (1976).
- [84] K. W. Stahl, E. Schlimme, F. Eckstein, FEBS Lett. 40, 241 (1974).
- [85] K. S. Boos, Diplomarbeit, Technische Universität Hannover 1974.
- [86] F. von der Haar, E. Schlimme, M. Gomez-Guillem, F. Cramer, Eur. J. Biochem. 24, 296 (1971).
- [87] K. S. Boos, J. Lüstorff, E. Schlimme, H. Hesse, H. Strotmann, FEBS Lett. 71, 124 (1976).
- [88] K. S. Boos, E. Schlimme, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 357, 290 (1976).
- [89] K. S. Boos, Dissertation, Technische Universität Hannover 1977.
- [90] K. S. Boos, J. Lüstorff, E. Schlimme, Abstr. Symp. Biochem. Membrane Transport, Zürich 1976, P. 401, S. 62.
- [91] O. Röder, H. D. Lüdemann, E. von Goldammer, Eur. J. Biochem. 53, 517 (1975).
- [92] P. C. Manor, W. Saenger, D. B. Davies, K. Jankowski, A. Rabczenko, Biochim. Biophys. Acta 340, 472 (1974).
- [93] R. W. Estabrook, Methods Enzymol. 10, 41 (1968).
- [94] E. Schlimme, J. Lüstorff, K. S. Boos, U. Oppermann, unveröffentlichte Ergebnisse (1976).
- [95] K. S. Boos, J. Lüstorff, E. Schlimme, M. Ikehara, Abstr. 10 IUB Congr. Biochem., Hamburg 1976, S. 288.
- [96] M. Ikehara, T. Maruyama, Tetrahedron 31, 1369 (1975).
- [97] K. S. Boos, E. Schlimme, M. Ikehara, Abstr. Meeting Fed. Eur. Biochem. Soc., Kopenhagen 1977, Nr. 301.
- [98] M. Ikehara, Biochemistry 11, 830 (1972).
- [99] E. Darzynkiewicz, M. Remin, A. Dworak, D. Shugar, Cancer Biochem. Biophys. 1, 85 (1975).
- [100] M. Remin, E. Darzynkiewicz, A. Dworak, D. Shugar, J. Am. Chem. Soc. 98, 367 (1976).

Der elektrooptische Kerr-Effekt in der Konformationsanalyse

Von Manuel James Aroney^[*]

Als Kerr-Effekt wird die Doppelbrechung bezeichnet, die durch Einwirkung eines elektrischen Feldes in einem Material hervorgerufen wird. Die große Empfindlichkeit dieser Eigenschaft gegenüber Veränderungen von Molekülgeometrie und -umgebung hat sie zur Grundlage einer wirksamen Methode zur Untersuchung der Konformation von Molekülen gemacht. Sie wurde außerdem erfolgreich zur Erforschung der Geometrie von Solvatation und Aggregation gelöster Stoffe angewendet. Dieser Aufsatz gibt eine Übersicht über die allgemeine Methode zur Messung des Kerr-Effekts, die Herkunft gerichteter effektiver Polarisierbarkeiten gelöster Moleküle und Struktureinheiten, die Berechnung theoretischer Kerr-Konstanten zur Prüfung von Molekülstrukturen und die Verfahren zur Bestimmung der Konformationen gelöster Stoffe. Anwendungsbereich und Grenzen der Methode werden an speziellen Konformationsproblemen erläutert. Bei hochbeweglichen Molekülen lassen sich gemessene und berechnete Kerr-Konstante nicht exakt vergleichen, weil die Konformationsenergie nicht genügend genau bekannt ist. Diese Übersicht befaßt sich vorwiegend mit der Bestimmung detaillierter Konformationsmerkmale von Molekülen. Auf die Anwendung gepulster orientierender Felder zur Untersuchung von Gestalt und Größe biologischer Makromoleküle wird jedoch ebenfalls hingewiesen.

1. Einführung

Wenn ein starkes, homogenes elektrisches Feld auf eine Aggregation von Molekülen im gasförmigen oder flüssigen Zustand einwirkt, wird ein gewisser Grad an Ordnung durch die Wechselwirkung permanenter und induzierter elektrischer Momente mit dem Feld \mathbf{E} hervorgerufen. Dabei wird ein statistisches Gleichgewicht erreicht, in dem die ungerichtete thermische Bewegung den orientierenden Wechselwirkungen entgegenwirkt. Das Molekülsystem im Feld wird optisch anisotrop. Der Brechungsindex, in Richtung des Feldes gemessen ($n_{||}$), unterscheidet sich vom Brechungsindex senkrecht zum Feld (n_{\perp}), d. h. die Substanz wird doppelbrechend. Experimentell wird der Effekt gewöhnlich untersucht, indem durch das

Neue analytische Methoden (10)

teilweise geordnete System ein Strahl monochromatischen, linear polarisierten Lichts gesandt wird, wobei die Polarisationsebene um 45° gegen \mathbf{E} gedreht ist. Der Vektor des einfallenden Lichts kann als Summe von zwei phasengleichen Komponenten betrachtet werden, die parallel bzw. senkrecht zu

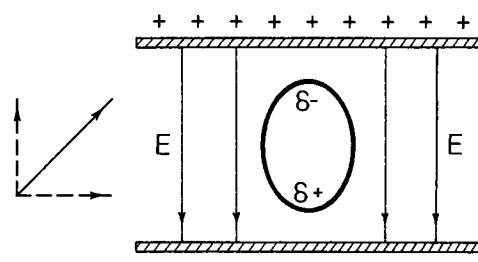


Abb. 1. Linear polarisiertes Licht, das in ein „geordnetes“ System von Molekülen eintritt. $n_{||} \neq n_{\perp}$.

[*] Dr. M. J. Aroney
Department of Inorganic Chemistry, University of Sydney
Sydney, New South Wales 2006 (Australien)