

Der gemeinsame Oxydationsweg für DPNH und Succinat; die Rolle der Cytochrome und die Wirkung von Aluminium und RÜ-Hemmstoff

Wie früher berichtet¹ übt Aluminium eine steigernde Wirkung im Succinat-Cyt. *c*-System des Herzmuskels aus, die oberhalb der Succinodehydrase lokalisiert wurde. Ein Faktor, der in der überstehenden Flüssigkeit von Retikulozytenhämolsaten vorkommt (RÜ-Hemmstoff) hemmt auch im Succinodehydrase-System. Das DPNH-O₂-System hingegen wird durch Al nicht wesentlich beeinflusst, wohl aber durch RÜ-Hemmstoff.

Fortgesetzte Untersuchungen zur Aufklärung dieser Beobachtungen wurden mit 3 Arten von Systemen durchgeführt, wobei ein Farbstoff (Dehydrase-System), Cyt. *c* und O₂ als Elektronen- bzw. Wasserstoffakzeptor fungierten. Als Substrate dienten einerseits DPNH und andererseits Succinat. Die Ergebnisse, die in Tabelle I illustriert werden, lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

TABELLE I

DIE WIRKUNG VON AL UND RÜ-HEMMSTOFF VON DPNH UND SUCCINAT-SYSTEM

Spektrophotometrische Versuche. In den Farbstoffsystmen wurde die Extinktionsabnahme von Dichlorphenolindophenol in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3} M$ CN bei 600 m μ gemessen. In den Cyt. *c*-Systemen wurde die Cyt. *c*-Reduktion in Gegenwart von CN durch Extinktionszunahme bei 550 m μ verfolgt. Im DPNH-O₂-System wurde die Oxydation des DPNH als Extinktionsabnahme bei 340 m μ gemessen. Als Hemmstoff wurde überstehende Flüssigkeit von Retikulozyten-Hämolsaten von Kaninchen benutzt, mit Ausnahme der Versuche im DPNH-O₂-System, bei denen gereinigte Ammoniumsulfat-Fraktionen verwendet werden.

Versuch	Hemmstoff	Al	Aktivität	
			$\Delta \log E/min/ml HE$	%
1. DPNH-Dichlorphenolindophenol				
1	—	—	14.5	100
	—	+	14.0	100
2	+	—	27.0	190
2. Succinat-Dichlorphenolindophenol				
3	—	—	9.4	100
	—	+	9.6	100
4	+	—	5.0	52
3. DPNH-Cyt. <i>c</i>				
5	—	—	14.4	100
	—	+	30.0	210
6	+	—	7.6	55
4. Succinat-Cyt. <i>c</i>				
7	—	—	8.2	100
	—	+	16.0	200
8	+	—	3.0	35
5. DPNH-O ₂ *				
9	—	—	2.5	100
	—	+	2.5	100
10	+	—	0.8	35

* Anderes Herzmuskelpräparat.

1. Die Hemmung durch den RÜ-Hemmstoff tritt in allen Succinatsystemen auf. Mit DPNH als Substrat ist sie sowohl mit Cyt. *c* wie auch mit O₂ als Elektronenakzeptor, nicht aber im Dehydrase (Diaphorase)-System nachweisbar. Demzufolge gibt es einen gemeinsamen Faktor, höchst wahrscheinlich Cyt. *b*, der oberhalb der DPNH-spezifischen Flavinenzyme liegt und den Kreuzungspunkt

im Oxydationsweg für das DPNH und das Succinat darstellt. Gegen die Vermutung, dass Succinodehydrase und Cyt. *b* identisch sein könnten^{2,3} spricht die Tatsache, dass zwar das Succinat-Cyt. *c*, nicht aber das DPNH-Cyt. *c*-System durch Malonat gehemmt werden.

2. Die Al-Wirkung ist zwischen Cyt. *b* und Cyt. *c* zu lokalisieren. Eine Steigerung durch Al ist nur bei Systemen, in denen Cyt. *c* eingeschaltet ist und die Cyt. *c* enthalten, zu beobachten.

3. Aufgrund der Tatsache, dass Oxydase-Systeme (O_2 als Akzeptor), die aus gewaschenem Herzmuskel hergestellt wurden, eine Al-Steigerung vermissen lassen, scheint der Schluss gerechtfertigt, dass ein direkter Weg von Cyt. *b* zu Cyt. Oxydase, ohne Vermittlung von Cyt. *c*, möglich und wirksam ist (siehe auch^{4,5}). Diese Schlussfolgerung wird durch Versuche an verschiedenen ausgiebig gewaschenen Herzmuskelpräparaten unterstützt. Während Phosphatextrakt von ungewaschenem oder einmal gewaschenem Herzmuskel im Oxydase-System eine beträchtliche Al-Steigerung aufweist, schwindet dieser Effekt mit mehrfachem Waschen; mit Cyt. *c* als Akzeptor ist er aber auch nach dem Waschen feststellbar.

4. Es ist daher anzunehmen, dass beide Wege, mit und ohne Einschaltung von Cyt. *c*, im funktionellen System der intakten Zelle operativ sind. Dafür sprechen auch die Ergebnisse an gewaschenen Herzmuskelpräparaten, die in Tabelle II wiedergegeben sind. Cyt. *c* steigert den O_2 -Verbrauch im Succinatoxydase-System aus gewaschenem Herzmuskel um etwa 100%; Al beeinflusst nur das System, das auch Cyt. *c* enthält.

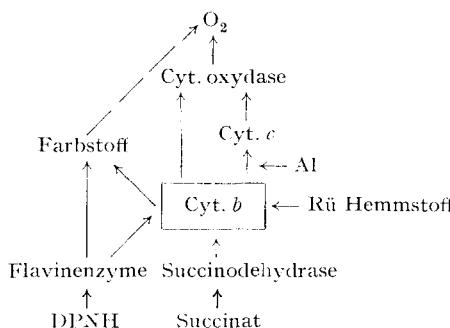
TABELLE II

DIE WIRKUNG VON AL UND CYT. C AUF DAS SUCCINAT-OXYDASE-SYSTEM

Manometrischer Versuch. Als Enzym diente der Phosphat-Extrakt von 5mal gewaschenem Rinderherz pH 7.4, Endkonzentration Phosphat 0.1 M, Al^{3+} $2.3 \cdot 10^{-4} M$, Cyt. *c* $0.8 \cdot 10^{-4} M$.

Versuch	Al	Cyt. <i>c</i>	O_2 -Verbrauch	
			mm ³ /h	%
1	—	—	74	100
2	+	—	73	100
3	—	+	151	190
4	+	+	185	235

Aus den Resultaten ergibt sich folgendes Schema der Atmungskette, wobei weder der durch BAL² und Antimycin⁶ hemmbare Faktor, der vermutlich auf der gemeinsamen Strecke oberhalb Cyt. *b*, noch das Phyllochinon⁷, das vermutlich unterhalb des Cyt. *b* wirksam ist, eingeschlossen sind.



Physiologisch-chemisches Institut der Humboldt-Universität, Berlin (Deutschland)

S. RAPOPORT
CH. NIERADT

¹ S. RAPOPORT, CH. NIERADT UND W. GERISCHER-MOTHE, *Naturwiss.*, 42 (1955) 128, 129.

² E. C. SLATER, *Biochem. J.*, 45, 1 (1949) 8, 14; 46 (1950) 484.

³ A. M. PAPPENHEIMER UND E. D. HENDEE, *J. Biol. Chem.*, 180 (1949) 597.

⁴ J. W. HURWITZ UND S. J. COOPERSTEIN, *J. Biol. Chem.*, 212 (1955) 771.

⁵ D. E. GREEN, B. MACKLER, R. REPASKE UND H. R. MAHLER, *Biochim. Biophys. Acta*, 15 (1954) 435.

⁶ V. R. POTTER UND A. E. REIF, *J. Biol. Chem.*, 194 (1952) 287.

⁷ C. MARTIUS, *Biochem. Z.*, 326 (1954) 26.

Eingegangen den 29. April 1955