

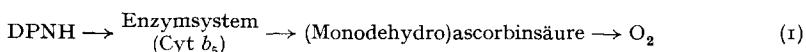
Über die Isolierung einer Ascorbinsäure-abhängigen DPNH-Oxydase

Im weiteren Verlaufe unserer Arbeiten über die Wirkung der Ascorbinsäure in der Nebenniere^{1, 2, 3, 4} haben wir aus Nebennieren ein Enzymsystem isoliert, das in Gegenwart von Ascorbinsäure und O_2 DPNH dehydrieren kann. Dieses Enzymsystem ist in den Mikrosomen lokalisiert.

Es lässt sich aus dem Überstand eines Schweineebennierenhomogenates nach Entfernung der Mitochondrien oder aus Nebennierenmikrosomen direkt mit Ammoniumsulfat bei einer Sättigungskonzentration von 40% ausfällen. Nach Behandlung des gewaschenen Rohproduktes mit 10%iger alkalischer Desoxycholatlösung erhält man ein Absorptionsspektrum mit folgenden Absorptionsmaxima:

$$\begin{array}{ll} \text{Oxydiert:} & 411 \text{ m}\mu \\ \text{reduziert:} & 423 \text{ m}\mu; 526 \text{ m}\mu; 557 \text{ m}\mu. \\ & (\text{mit } Na_2S_2O_4) \end{array}$$

Die Absorptionsmaxima sind identisch mit denen des Cytochrom b_5 , das vor kurzem aus Rattenlebermikrosomen isoliert wurde^{5, 6}. Nach unseren experimentell gewonnenen Ergebnissen ermöglicht das Enzymsystem die direkte Oxydation von DPNH unter Vermittlung der Ascorbinsäure



Setzt man an Stelle von Ascorbinsäure und O_2 Fe^{+++} in komplexer Form ein, so verläuft die Reaktion



wobei Fe^{+++} zu Fe^{++} reduziert wird und somit als Endelektronenacceptor dient. Diese Reaktion (2) verläuft schneller als (1). Da Ascorbinsäure nur als Monodehydroascorbinsäure Elektronen aufnehmen kann, ist der Übergang von Ascorbinsäure in die Monodehydroform bei der Reaktion (1) mit O_2 geschwindigkeitsbestimmend.

Der Proteinkomplex hat noch geringe Cytochrom c -Oxydasewirkung, die durch KCN vollständig gehemmt wird, während die Reaktionen (1) und (2) durch Zusatz von KCN 10^{-3} mol oder auch Natriumazid 10^{-3} mol nicht beeinflusst werden.

Für die Anwesenheit wirksamer SH-Gruppen im Enzymsystem spricht die Tatsache, dass p -Chlormercuribenzoat die Reaktionen (1) und (2) hemmt. Als weitere Inhibitoren kennen wir bis jetzt Ca^{++} und Mn^{++} . Die Metallhemmung lässt sich durch Zusatz von Versen teilweise aufheben. Mg^{++} und Antimycin A hemmen nicht. TPNH wird von dem vorliegenden Proteinkomplex unter den gegebenen Bedingungen nicht oxydiert.

Die Ascorbinsäure lässt sich ersetzen durch *d*-iso-Ascorbinsäure, nicht dagegen durch Glutathion oder Adrenalin. *d*-iso-Ascorbinsäure ist jedoch nicht so wirksam wie die Ascorbinsäure selbst.

Wie wir bereits früher berichtet haben, wird die DPNH-Oxydation in Nebennieren-Mitochondrien durch Ascorbinsäure beschleunigt. Ob das hier beschriebene Enzymsystem auch in den Mitochondrien vorkommt oder ob mitgeschleppte Mikrosomen die Wirkung verursachen, wird noch untersucht. Es wird weiter von uns geprüft, inwieweit das Enzymsystem in anderen Organen vorkommt. Bis jetzt haben wir die beschriebene Wirkung (Reaktion (1)) noch in Lebermikrosomen von Ratten festgestellt.

Wir sind zur Zeit damit beschäftigt, die vorliegende Proteinfaktion weiter zu reinigen, um unsere bisher gewonnenen experimentellen Befunde, über die wir dann im Zusammenhang ausführlich berichten werden, in quantitativer Hinsicht zu erweitern.

Der deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Mittel zur Durchführung dieser Arbeit.

Zentrallaboratorium der Städt. Krankenanstalten, Mannheim (Deutschland)

H. KERSTEN

W. KERSTEN

H.J. STAUDINGER

¹ W. KERSTEN, H. SCHMIDT UND H.J. STAUDINGER, *Biochem. Z.*, 326 (1955) 469.

² H. KERSTEN, W. KERSTEN UND H.J. STAUDINGER, *Biochim. Biophys. Acta*, 18 (1955) 312.

³ H. KERSTEN, W. KERSTEN UND H.J. STAUDINGER, *Biochem. Z.*, 327 (1955) 284.

⁴ H. KERSTEN, W. KERSTEN UND H.J. STAUDINGER, *Biochem. Z.*, 328 (1956) 24.

⁵ D. GARFINKEL, *Biochim. Biophys. Acta*, 21 (1956) 199.

⁶ P. STRITTMATTER UND S. F. VELICK, zit. nach S. F. VELICK, *Ann. Rev. Biochem.*, 25 (1956) 271.