

Beschleunigung des oxydativen Pentosephosphatcyclus in Hefezellen durch Ammoniumsalze

GLOCK UND McLEAN zeigten, dass in verschiedensten tierischen Geweben das Wasserstoff-übertragende Coenzym TPN überwiegend in reduzierter Form vorliegt¹. Dasselbe gilt für Glucose oxydierende Bäckerhefezellen: mit einer früher beschriebenen Methode² fanden wir pro Gramm Frischgewicht 10 μg TPN neben 46 μg TPNH. In Hefe überwiegen demnach wie in anderen Zellen und Geweben die TPN reduzierenden Reaktionen über die TPNH oxydierenden Reaktionen. Man konnte aufgrund dieser Situation vermuten, dass der auf Vorhandensein von oxydiertem TPN angewiesene oxydative Pentosephosphatcyclus durch Mangel an TPN limitiert ist und dass durch Inangasetzung zusätzlicher, TPNH oxydierender Systeme eine Beschleunigung des Glucoseabbaues über den oxydativen Pentosephosphatcyclus bewirkt werden kann (Zusammenfassung siehe^{3,4}). Tatsächlich beobachteten KINOSHITA⁵ an Retina nach Zusatz von Pyruvat, HERS⁶ an Leberschnitten nach Zusatz von Glucoson, Glucuronolacton oder Glycerinaldehyd, CAHILL *et al.*⁷ an Leberschnitten nach Zusatz von Methylenblau oder Pyocyanin und BRIN UND YONEMOTO⁸ nach Zusatz von Methylenblau zu Erythrocyten eine Beschleunigung des Pentosephosphatcyclus. In allen Fällen bewirkten die zugesetzten Metaboliten oder Farbstoffe eine vermehrte Oxydation von TPNH zu TPN.

In früheren Versuchen fanden wir Anhaltspunkte dafür, dass nach Zusatz von Ammonium-Ionen zu Glucose oxydierenden Hefezellen durch Einsetzen der TPNH verbrauchenden reduktiven Aminierung von α -Ketoglutarat zu Glutaminsäure eine Verschiebung des Glucoseabbaues vom Weg über Glycolyse und Citronensäurecyclus zum Weg des oxydativen Pentosephosphatcyclus stattfindet⁹⁻¹². Insbesondere spricht die nach Ammoniumzusatz beobachtete Abnahme der Glucose-6-phosphat-Konzentration und die gleichzeitig damit stattfindende Zunahme der Konzentration an oxydiertem TPN¹⁰ für eine solche Verschiebung.

TABELLE I

ISOTOPENANALYSE DES BEIM AEROBEN UMSATZ VON $[1-^{14}\text{C}]$ GLUCOSE UND $[6-^{14}\text{C}]$ GLUCOSE IN
HEFANSÄTZEN MIT UND OHNE AMMONIUMSULFAT ENTWICKELTEN CO_2

Pro Warburggefäß (Gesamt volumen der Ansätze 2.0 ml; 0.083 M Citratpuffer pH 6.0; 0.2 % Glucose; ± 0.08 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; Gasphase Luft; im Einsatz 0.2 ml 2 N NaOH) wurden 15 mg gewaschene und verarmte Bäckerhefe der Sinner AG. (Karlsruhe) mit 1 μC $[1-^{14}\text{C}]$ Glucose bzw. $[6-^{14}\text{C}]$ Glucose 50 min bei 25° inkubiert. Fällung des CO_2 aus dem NaOH-Einsatz nach Zusatz von inaktivem Na_2CO_3 als BaCO_3 . Auszählung bei "unendlicher Schichtdicke" (Massenbelegung 12 mg/cm²) im fensterlosen Methandurchflusszähler der Firma Friessecke und Höpfner (FHZ 407) bis zur 1.5 % Fehlergrenze.

	Versuch	$^{14}\text{CO}_2$ aus $[1-^{14}\text{C}]$ Glucose (Impulse/min/ Warburg-Gefäß)	$^{14}\text{CO}_2$ aus $[6-^{14}\text{C}]$ Glucose (Impulse/min/ Warburg-Gefäß)	C_1/C_6
Ansatz mit NH_4^+	1	9,600	1,450	6.6
	2	11,080	1,730	6.4
Ansatz ohne NH_4^+	1	2,800	1,170	2.4
	2	3,170	1,260	2.5

Abkürzungen: TPN bzw. TPNH, oxydiertes bzw. reduziertes Triphosphopyridinnucleotid; DPN, Diphosphopyridinnucleotid.

Versuche mit Glucose, die an C_1 bzw. C_6 mit ^{14}C markiert war, beweisen nun die von uns angenommene Verschiebung des Glucose-Abbaues in Hefezellen. Man sieht aus Tabelle I, dass der Zusatz von NH_4^+ zu Glucose oxydierender Hefe die $^{14}CO_2$ -Freisetzung um das 2.5 fache zugunsten von $[1-^{14}C]$ Glucose verschiebt. Dies spricht eindeutig für eine Intensivierung des Glucose-Abbaues über den oxydativen Pentosephosphatcyclus nach Zusatz von Ammoniumsalzen. Die durch NH_4^+ -Zusatz gelöste Oxydation von TPNH zu TPN findet wahrscheinlich durch 2 Mechanismen statt: (a) Reduktive Aminierung von α -Ketoglutarat zu Glutaminsäure, (b) Wasserstoffübertragung von TPNH auf DPN durch Zusammenwirken der in Hefe nachgewiesenen DPN-spezifischen und TPN-spezifischen Glutaminsäuredehydrogenasen⁹. Hefezellen, die in Phosphatpuffer glucose oxydieren, erhalten mit dem Angebot von Ammoniumsalzen die entscheidende stoffliche Voraussetzung für Wachstum und Zellvermehrung. Deshalb liegt in der nach Ammonium-Zusatz einsetzenden vermehrten Produktion von Pentosephosphaten aus Glucose ein "sinnvoller" Mechanismus vor: Pentosephosphate werden zur Synthese von Nucleinsäuren benötigt und stellen damit wichtige, für Wachstum und Zellvermehrung benötigte, Stoffwechselzwischenprodukte dar.

Dem Bundesministerium für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Unterstützung unserer Arbeiten.

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität,
Freiburg (Deutschland)

HELMUT HOLZER
IRENE WITT

¹ G. E. GLOCK UND P. McLEAN, *Biochem. J.*, 61 (1955) 388.

² H. HOLZER, D. BUSCH UND H. KRÖGER, *Z. Physiol. Chem. Hoppe Seyler's*, 313 (1958) 184.

³ F. DICKENS, G. E. GLOCK AND P. McLEAN, in *Ciba Foundation Symposium on Regulation of Cell Metabolism*, J. u. A. Churchill, Ltd., London, England, 1959, p. 150.

⁴ H. HOLZER, "Carbohydrate Metabolism", *Ann. Rev. Biochem.*, 28 (1959) 171.

⁵ J. H. KINOSHITA, *J. Biol. Chem.*, 228 (1957) 247.

⁶ H. G. HERS, in *Le Métabolisme du Fructose*, Éditions Arscia, 60, Rue de L'Étuve - Bruxelles, 1957, S. 148.

⁷ G. F. CAHILL, A. B. HASTINGS, J. ASHMORE AND S. ZOTTU, *J. Biol. Chem.*, 230 (1958) 125.

⁸ M. BRIN AND R. H. YONEMOTO, *J. Biol. Chem.*, 230 (1958) 307.

⁹ H. HOLZER UND S. SCHNEIDER, *Biochem. Z.*, 330 (1958) 240.

¹⁰ H. HOLZER UND I. WITT, *Angew. Chem.*, 70 (1958) 439.

¹¹ I. WITT UND H. HOLZER, IV. Internationaler Kongress für Biochemie, Wien, Oesterreich, September 1958, S. 132.

¹² H. HOLZER UND I. WITT, *Biochem. Z.*, 330 (1958) 545.

Eingegangen den 18. Juni 1959

Biochim. Biophys. Acta, 38 (1960) 163-164

Activation of methionine for transmethylation

IV. The failure of 3,5'-cycloadenosine to replace adenosine triphosphate*

The enzymic activation of methionine for transmethylation is known to involve the formation of a sulfonium compound¹, (—)-S-adenosyl-L-methionine**, by a reaction

Abbreviations: ATP, adenosine 5'-triphosphate; ADP, adenosine 5'-diphosphate.

* Paper No. 17 in a series on enzymic mechanisms in transmethylation.

** In the term (—)-S-adenosyl-L-methionine the L refers to the configuration of the α -amino carbon atom while the (—) refers to the contribution of the asymmetric sulfonium center to the net rotation of the molecule. This terminology is based upon the finding that only one sulfonium diastereoisomer is formed enzymically and is active as a transalkylating agent with several enzyme systems².