

BBA 75707

EIGENSCHAFTEN EINES ASYMMETRISCHEN CARRIER-MODELLS FÜR DEN ZUCKERTRANSPORT AM MENSCHLICHEN ERYTHROZYTEN

P. GECK

Institut für Vegetative Physiologie der Universität, Frankfurt a. Main (Deutschland)

(Eingegangen am 17. März, 1971)

SUMMARY

Properties of a carrier model for the transport of sugars by human erythrocytes

1. Numerous authors investigating the transport of sugars by human erythrocytes reported findings incompatible with the symmetrical carrier model. Influx and efflux are different, even though the concentration gradients are of the same magnitude, but opposite in direction. The K_m of the influx of glucose into preloaded cells is smaller by a factor of 10 than the K_m for the unidirectional flux at equilibrium. There is neither a quantitative explanation for the exchange between glucose and galactose and between glucose and mannose nor for the counter transport experiments of glucose.

2. The asymmetrical carrier model described resolves these contradictions. The dissociation constants on one side of the membrane differ from those on the other side. Moreover the translocation probabilities of the free carrier and of the carrier substrate complex from the ' to the '' side are assumed different from the corresponding translocation probabilities from the '' to the ' side.

3. Apparent dissociation constants and translocation resistances are used formulating the equations. This form makes further restrictions unnecessary, that the model may not violate the 2nd law of thermodynamics.

4. Using the experimental findings of several authors the contradictions to the symmetrical carrier model are shown resolved.

5. A discussion of the physiological significance of asymmetrical transport characteristics of cell membranes follows. Regulation may be possible by changing the asymmetry characteristics of the membrane.

EINLEITUNG

Genaue Untersuchungen¹⁻⁸ über den Transport von Zuckern am menschlichen Erythrocyten ergaben zahlreiche Hinweise zur Stützung der Carrier-Hypothese: erleichterte Diffusion, Sättigungskinetik des Fluxes, Spezifität bezüglich der zu transportierenden Substanz, beschleunigte Austauschdiffusion.

Es wird meist angenommen¹⁻⁸, dass die Translokation des Carrier-Substrat-Komplexes und des unbeladenen Carriers der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für den Transport ist. Wegen der beschleunigten Austauschdiffusion wird ferner

angenommen^{3,6,8}, dass die Beweglichkeit des beladenen Carriers grösser ist als die des unbeladenen Carriers.

Die Translokationsgeschwindigkeiten des beladenen beziehungsweise des unbeladenen Carriers von der '-Seite zur ''-Seite sollen jedoch gleich den entsprechenden Geschwindigkeiten von der ''-Seite zur '-Seite sein. Ferner sollen die Dissoziationskonstanten auf beiden Seiten der Membran gleich sein (Symmetrie-Forderung)¹⁻⁶. Zur Begründung dieser Forderung wurde angeführt, dass die durch Hemmung des Sorbose-Fluxes bestimmten Dissoziationskonstanten des Carrier-Substrat-Komplexes für beide Seiten der Membran gleich sind⁵, und dass das System keine Anreicherung zeigt.

Einige Befunde lassen sich jedoch nicht mit dem symmetrischen Fall des Carrier-Modells erklären:

(1) Die K_m für den Flux von Glucose in Zellen, die mit Glucose vorbeladen wurden, ist etwa eine Grössenordnung kleiner als die K_m für den unidirektionalen Flux im Gleichgewicht^{1,2,4,8}. Sie dürfte nach dem symmetrischen Modell jedoch nicht kleiner als die Hälfte der K_m im Gleichgewicht sein.

(2) Die Maximalgeschwindigkeit des Influxes von Glucose in unvorbeladene Zellen ist kleiner als die Maximalgeschwindigkeit des Effluxes in ein Medium ohne Substrat⁸.

(3) Counter-Transport-Experimente für Glucose lassen sich nicht mit den integrierten Fluxgleichungen in Einklang bringen⁵.

(4) Die Maximalgeschwindigkeit für den Austausch zwischen Glucose, Galaktose und Mannose ergeben Widersprüche⁵.

In letzter Zeit wurden daher zwei Modelle entwickelt, die diese Diskrepanzen

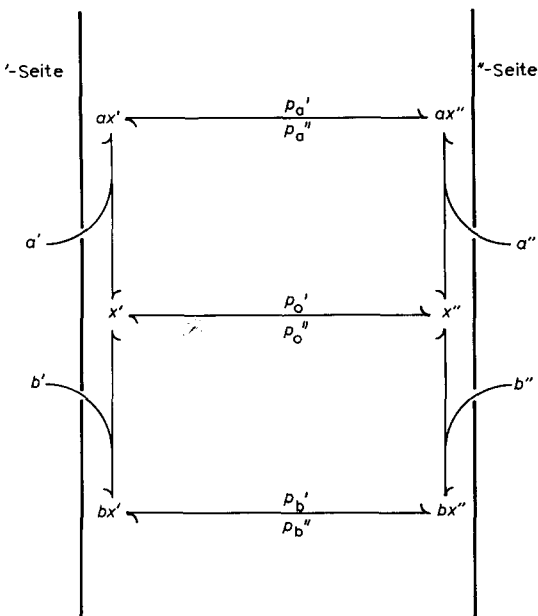


Fig. 1. Asymmetrisches Carrier-Modell. Bezeichnungen siehe unter Symbole.

erklären sollen^{9,10}. NAFTALIN⁹ nimmt an, dass der Transport durch Poren in der Membran erfolgt, die mit spezifischen Bindungsorten für die zu transportierende Substanz ausgelegt sind. Die Bindung an einen unbesetzten Bindungsort soll dabei langsamer erfolgen als die Platzwechselreaktion zwischen zwei besetzten Bindungsorten. LIEB UND STEIN¹⁰ postulieren ein tetrameres Transportprotein in der Membran, dessen Transporteigenschaften von der Anzahl der an das Protein gebundenen Liganden abhängt.

Ohne zusätzliche Annahmen über Asymmetrie lässt sich mit beiden Modellen der Widerspruch 2 nicht ausräumen. Auch für den Counter-Transport von Glucose lässt sich nach dem Modell von LIEB UND STEIN keine bessere Übereinstimmung finden als durch das Carrier-Modell. NAFTALIN diskutiert diesen Fall nicht.

In der folgenden Arbeit soll gezeigt werden, dass sich die Widersprüche zwischen experimentellen Befunden und der Carrier-Hypothese beseitigen lassen, wenn man die Symmetrie-Forderung aufhebt. Die Argumente für die Symmetrie sind, wie gezeigt werden soll, nicht stichhaltig. Das System verstösst nicht gegen den zweiten Hauptsatz der Thermodynamik.

REGEN UND MORGAN¹¹ haben bereits auf die Möglichkeit eines asymmetrischen Carrier-Modells hingewiesen. Sie kommen jedoch zu dem Schluss, dass experimentelle Hinweise für Asymmetrie vermutlich auf Messfehlern beruhen.

Das Carrier-System ist in Fig. 1 schematisch dargestellt.

SYMBOLS

$a'; a''$	Konzentration von A auf der '- und ''-Seite
$b'; b''$	Konzentration von B auf der '- und ''-Seite
$x'; x''$	Konzentration des unbeladenen Carriers auf der '- und ''-Seite der Membran
$ax'; ax''$	Konzentration des Carrier-A-Komplexes auf der '- und ''-Seite der Membran
$bx'; bx''$	Konzentration des Carrier-B-Komplexes auf der '- und ''-Seite der Membran
T	Gesamtkonzentration des Carriers in der Membran
$K_a'; K_a''$	Dissoziationskonstante des Carrier-A-Komplexes auf der '- und ''-Seite
$K_b'; K_b''$	Dissoziationskonstante des Carrier-B-Komplexes auf der '- und ''-Seite
$J_a'; J_a''$	unidirektionaler Flux der Substanz A von der '- zur ''-Seite und von der ''- zur '-Seite
$J_b'; J_b''$	unidirektionaler Flux der Substanz B von der '- zur ''-Seite und von der ''- zur '-Seite
J_a^N	Nettoflux der Substanz A
J_b^N	Nettoflux der Substanz B
$i; j$	Indizes: o für unbeladenen Carrier, a für Carrier-A-Komplex, b für Carrier-B-Komplex
p_i'	Translokationswahrscheinlichkeit des unbeladenen Carriers, Carrier-A-Komplexes, Carrier-B-Komplexes von der '- zur ''-Seite
p_j''	Translokationswahrscheinlichkeit des unbeladenen Carriers, Carrier-A-Komplexes, Carrier-B-Komplexes von der ''- zur '-Seite
R_{ij}	Translokationswiderstände

- $K_a; K_b$ scheinbare Dissoziationskonstanten des Carrier-A-Komplexes und des Carrier-B-Komplexes
 $\alpha; \beta$ auf die entsprechenden scheinbaren Dissoziationskonstanten normierte Konzentrationen von A und B

THEORIE

Die Berechnungen wurden unter folgenden Voraussetzungen durchgeführt:

- (1) Die Gesamtmenge des Carriers bleibt konstant.
- (2) Die Summe der Nettofluxe aller Carrier-Formen ist gleich null.
- (3) Die Translokation ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt.

Dann gelten folgende Beziehungen:

Erhaltungssatz des Carriers:

$$x' + ax' + bx' + x'' + ax'' + bx'' = T \quad (1)$$

Steady-state-Bedingung für den Carrier:

$$p_0' \cdot x' + p_a' \cdot ax' + p_b' \cdot bx' = p_0'' \cdot x'' + p_a'' \cdot ax'' + p_b'' \cdot bx'' \quad (2)$$

Massenwirkungsgesetze für die Carrier-Substrat-Komplexe:

$$\frac{a' \cdot x'}{ax'} = K_a' \quad \frac{a'' \cdot x''}{ax''} = K_a'' \quad \frac{b' \cdot x'}{bx'} = K_b' \quad \frac{b'' \cdot x''}{bx''} = K_b'' \quad (3)$$

Für die Fluxe gilt:

$$\begin{aligned} J_a' &= p_a' \cdot ax' & J_a'' &= p_a'' \cdot ax'' & J_a^N &= J_a' - J_a'' \\ J_b' &= p_b' \cdot bx' & J_b'' &= p_b'' \cdot bx'' & J_b^N &= J_b' - J_b'' \end{aligned} \quad (4)$$

Setzt man die Gleichungen 1, 2 und 3 in Gleichung 4 für die Nettofluxe ein, so erhält man:

$$\begin{aligned} J_a^N &= \left\{ p_a' \cdot \frac{a'}{K_a'} \left(p_0'' + p_b'' \cdot \frac{b''}{K_b''} \right) - p_a'' \cdot \frac{a''}{K_a''} \left(p_0' + p_b' \cdot \frac{b'}{K_b'} \right) \right\} N^{-1} \\ J_b^N &= \left\{ p_b' \cdot \frac{b'}{K_b'} \left(p_0'' + p_a'' \cdot \frac{a''}{K_a''} \right) - p_b'' \cdot \frac{b''}{K_b''} \left(p_0' + p_a' \cdot \frac{a'}{K_a'} \right) \right\} N^{-1} \end{aligned} \quad (5)$$

Für den Nenner N gilt dabei folgender Ausdruck:

$$\begin{aligned} N &= \left\{ \left(1 + \frac{a'}{K_a'} + \frac{b'}{K_b'} \right) \left(p_0'' + p_a'' \cdot \frac{a''}{K_a''} + p_b'' \cdot \frac{b''}{K_b''} \right) + \right. \\ &\quad \left. \left(1 + \frac{a''}{K_a''} + \frac{b''}{K_b''} \right) \left(p_0' + p_a' \cdot \frac{a'}{K_a'} + p_b' \cdot \frac{b'}{K_b'} \right) \right\} T^{-1} \end{aligned} \quad (6)$$

Sind $a' = a'' = a$ und $b' = b'' = b$, so müssen die Nettofluxe verschwinden, damit keine Anreicherung zustande kommt.

Soll diese Bedingung für beliebige a und b erfüllt sein, so muss gelten:

$$K_a' \cdot \frac{p_0'}{p_a'} = K_a'' \cdot \frac{p_0''}{p_a''} = K_a \quad K_b' \cdot \frac{p_0'}{p_b'} = K_b'' \cdot \frac{p_0''}{p_b''} = K_b \quad (7)$$

Daraus ergibt sich die Berechtigung für die Einführung der scheinbaren Dissoziationskonstanten K_a und K_b . Ferner werden im Folgenden die normierten Konzentrationen α und β eingeführt. Sie sind wie folgt definiert:

$$\alpha = \frac{a}{K_a} \quad \beta = \frac{b}{K_b}$$

Setzt man diese Bezeichnungen in Gleichung 6 ein, so folgt für den Nenner N :

$$\begin{aligned} N = \frac{p_0' \cdot p_0''}{T} & \left\{ \left(\frac{1}{p_0'} + \frac{1}{p_0''} \right) + \alpha' \left(\frac{1}{p_a'} + \frac{1}{p_0''} \right) + \beta' \left(\frac{1}{p_b'} + \frac{1}{p_0''} \right) + \alpha'' \left(\frac{1}{p_0'} + \frac{1}{p_a''} \right) + \right. \\ & \beta'' \left(\frac{1}{p_0'} + \frac{1}{p_b''} \right) + \alpha' \alpha'' \left(\frac{1}{p_a'} + \frac{1}{p_a''} \right) + \alpha' \beta'' \left(\frac{1}{p_a'} + \frac{1}{p_b''} \right) + \beta' \alpha'' \left(\frac{1}{p_b'} + \frac{1}{p_a''} \right) + \\ & \left. \beta' \beta'' \left(\frac{1}{p_b'} + \frac{1}{p_b''} \right) \right\} \end{aligned} \quad (8)$$

Definiert man Widerstandsgrößen R wie folgt:

$$R_{ij} = \frac{1}{T} \left(\frac{1}{p_i'} + \frac{1}{p_j''} \right) \quad (9)$$

so folgt für den Nenner N :

$$\begin{aligned} N = p_0' \cdot p_0'' (R_{00} + \alpha' R_{a0} + \beta' R_{b0} + \alpha'' R_{0a} + \beta'' R_{0b} + \alpha' \alpha'' R_{aa} + \alpha' \beta'' R_{ab} + \\ \alpha'' \beta' R_{ba} + \beta' \beta'' R_{bb}) \end{aligned} \quad (10)$$

Aus der Definition der Widerstandsgrößen R ergibt sich folgende Gleichung:

$$R_{i_1 j_1} + R_{i_2 j_2} = R_{i_1 j_2} + R_{i_2 j_1} \quad (11)$$

Für die Fluxe von A gilt:

unidirektionaler Flux von der '- zur ''-Seite:

$$\begin{aligned} \frac{1}{J_{a'}} = \frac{R_{a0} + \alpha'' R_{aa} + \beta'' R_{ab}}{1 + \alpha'' + \beta''} \times \\ \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha'} \cdot \frac{R_{00} + \alpha'' R_{0a} + \beta'' R_{0b} + \beta' (R_{b0} + \alpha'' R_{ba} + \beta'' R_{bb})}{R_{a0} + \alpha'' R_{aa} + \beta'' R_{ab}} \right\} \end{aligned} \quad (12)$$

unidirektionaler Flux von der ''- zur '-Seite:

$$\begin{aligned} \frac{1}{J_{a''}} = \frac{R_{0a} + \alpha' R_{a0} + \beta' R_{ba}}{1 + \alpha' + \beta'} \times \\ \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha''} \cdot \frac{R_{00} + \alpha' R_{a0} + \beta' R_{b0} + \beta'' (R_{0b} + \alpha' R_{ab} + \beta' R_{bb})}{R_{0a} + \alpha' R_{aa} + \beta' R_{ba}} \right\} \end{aligned} \quad (13)$$

Nettoflux:

$$J_a^N = \frac{\alpha'(1 + \beta'') - \alpha''(1 + \beta')}{R_{00} + \alpha'R_{a0} + \beta'R_{b0} + \alpha''R_{0a} + \beta''R_{0b} + \alpha'\alpha''R_{aa} + \alpha'\beta''R_{ab} + \beta'\alpha''R_{ba} + \beta'\beta''R_{bb}} \quad (14)$$

Vertauscht man in diesen Gleichungen a und b und α und β , so erhält man die entsprechenden Fluxe für B.

Die unidirektionalen Fluxe gehorchen einer Michaelis-Menten-Beziehung der Form:

$$\frac{1}{J} = \frac{1}{J_{\max}} \left(1 + \frac{1}{a} K_m \right) \quad (15)$$

Im folgenden sind die Sonderfälle zusammengestellt, die in der Diskussion behandelt werden.

Fall I: Nur die Substanz A ist vorhanden.

$$\frac{1}{J_{a'}} = \frac{R_{a0} + \alpha''R_{aa}}{1 + \alpha''} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha'} \cdot \frac{R_{00} + \alpha''R_{0a}}{R_{a0} + \alpha''R_{aa}} \right\} \quad (16a)$$

$$\frac{1}{J_{a''}} = \frac{R_{0a} + \alpha'R_{aa}}{1 + \alpha'} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha''} \cdot \frac{R_{00} + \alpha'R_{a0}}{R_{0a} + \alpha'R_{aa}} \right\} \quad (16b)$$

$$J_a^N = \frac{\alpha' - \alpha''}{R_{00} + \alpha'R_{a0} + \alpha''R_{0a} + \alpha'\alpha''R_{aa}} \quad (16c)$$

Fall Ia: Die Transkonzentration ist sehr klein (Nichtaustausch), α' oder α'' gegen null.

$$\frac{1}{J_{a'}} = R_{a0} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha'} \cdot \frac{R_{00}}{R_{a0}} \right\} \quad \frac{1}{J_{a''}} = R_{0a} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha''} \cdot \frac{R_{00}}{R_{0a}} \right\} \quad (17a, b)$$

Fall Ib: Die Transkonzentration ist sehr gross. (Austausch) α' oder α'' gegen unendlich.

$$\frac{1}{J_{a'}} = R_{aa} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha'} \cdot \frac{R_{0a}}{R_{aa}} \right\} \quad \frac{1}{J_{a''}} = R_{aa} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha''} \cdot \frac{R_{a0}}{R_{aa}} \right\} \quad (18a, b)$$

Fall Ic: Die Konzentrationen sind auf beiden Seiten der Membran gleich (Gleichgewicht), $\alpha' = \alpha'' = \alpha$.

$$\frac{1}{J_{a'}} = \frac{1}{J_{a''}} = R_{aa} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha} \cdot \frac{R_{00}}{R_{aa}} \right\} \quad (19)$$

Fall Id: Hemmung des Nettofluxes. Die Konzentration ist auf der einen Seite der Membran sehr hoch, auf der anderen Seite variabel. α' oder α'' gegen unendlich.

$$\frac{1}{J_{a^N}} = -R_{0a} \left\{ 1 + \alpha' \cdot \frac{R_{aa}}{R_{0a}} \right\} \quad \frac{1}{J_{a^N}} = R_{a0} \left\{ 1 + \alpha'' \cdot \frac{R_{aa}}{R_{a0}} \right\} \quad (20a, b)$$

Fall II: Austausch zwischen verschiedenen Substanzen:

$$J'_{a \max} = J''_{b \max} = \frac{1}{R_{ab}} \quad (21)$$

Fall III: Hemmung des Fluxes einer Substanz B mit geringer Affinität durch unterschiedliche Konzentrationen einer Substanz A mit hoher Affinität. Die Konzentrationen von A sind jeweils auf beiden Seiten der Membran gleich.

$$\begin{aligned} \alpha' = \alpha'' = \alpha & & \beta'' = 0 & & \beta' \rightarrow 0 \\ & & \beta' = 0 & & \beta'' \rightarrow 0 \end{aligned}$$

$$\frac{1}{f_{b'}} = \frac{R_{aa}}{\beta'} \left(\frac{R_{00}}{R_{aa}} + \alpha \right) \quad \frac{1}{f_{b''}} = \frac{R_{aa}}{\beta''} \left(\frac{R_{00}}{R_{aa}} + \alpha \right) \quad (22a, b)$$

Fall IV: Integrierte Fluxgleichungen für den Countertransport eines Isotops A der unmarkierten Substanz B. Die Aussenkonzentration a' von A bleibt konstant, b' bleibt gleich null. Die Innenkonzentration von A zur Zeit null ist gleich null.

Abkürzungen:

$$\frac{\alpha'' - \alpha'}{\alpha'} = x \quad \frac{\alpha'' + \beta'' - \alpha'}{\alpha'} = y$$

$$x = y \left\{ 1 - \left(1 - \frac{x(0)}{y(0)} \right) \left(\frac{y}{y(0)} \right)^\alpha \right\} \quad (23a)$$

$$K_a'(\alpha'R_{aa} + R_{0a})(y(0) - y) + K_a(1 + \alpha')(\alpha'R_{aa} + R_{00}) \ln \frac{y(0)}{y} = t \quad (23b)$$

DISKUSSION

Die Ableitung zeigt, dass die Aufhebung der Symmetrie-Forderung nicht gegen den 2. Hauptsatz der Thermodynamik verstösst. Die Dissoziationskonstanten der Carrier-Substrat-Komplexe und die Translokationswahrscheinlichkeiten müssen nur den Gleichungen 7 gehorchen. Die Dissoziationskonstanten sind nur messbar, wenn Symmetrie vorliegt, denn die durch Hemmung des Sorbose-Fluxes bestimmte Inhibitor-konstante K_i beträgt nach Gleichung 22a, b für Efflux und Influx von Sorbose: $K_i = K_a \cdot R_{00}/R_{aa}$. Der gleiche Ausdruck gilt für die Michaeliskonstante des unidirektionalen Fluxes im Gleichgewicht. Die Ausdrücke geben nur bei Symmetrie die Dissoziationskonstanten an. Findet man für Influx und Efflux gleiche Inhibitor-konstanten⁴, so kann man daraus nicht auf gleiche Dissoziationskonstanten für die beiden Seiten der Membran schliessen. Gleichung 14 zeigt, dass bei Formulierung der Fluxes durch Einführung der scheinbaren Dissoziationskonstanten K_a und K_b keine Einschränkungen mehr erforderlich sind, damit das System nicht gegen den 2. Hauptsatz verstösst. Zur Vereinfachung der Gleichungen wurden statt der Translokationswahrscheinlichkeiten p die Translokationswiderstände R eingeführt. Sie sind im Gegensatz zu den Translokationswahrscheinlichkeiten messbare Grössen. Der Translokationswiderstand R_{ao} gibt zum Beispiel die Zeit an, die erforderlich ist, um eine Mengeneinheit der Substanz A pro Volumeneinheit von der '-Seite zur ''-Seite zu transportieren. Es besteht eine Analogie zum Begriff Widerstand in der Elektrizitätslehre.

Im Folgenden sollen einige Befunde an Hand der obigen Gleichungen diskutiert werden. Dabei wird das Zellinnere als ''-Seite bezeichnet, das Medium als '-Seite. Mit A wird Glucose, mit B Galaktose und mit C Mannose bezeichnet.

TABELLE I

MAXIMALGESCHWINDIGKEITEN UND MICHAELISKONSTANTEN FÜR DEN GLUCOSEFLUX BEI 20°

Daten nach LACKO *et al.*⁸. N: Nichtaustausch; A: Austausch; E: Gleichgewicht. ',-Seite: Aussenmedium; ''-Seite: Zellinneres.

Versuchs- typ	[Glucose] '-Seite (mM)	[Glucose] ''-Seite (mM)	J_{max} (mM/sec)	K_m (mM)
E	$a' = a''$		4.4 ± 0.7	2.0 ± 3
N	0.1-18	0	0.60 ± 0.02	1.6 ± 0.2
N	0	37.3-10.7	1.34 ± 0.03	—
A	0.1-37	38	2.65 ± 0.20	1.7 ± 0.3
A	1-8	76	2.99 ± 0.05	2.0

Aus den Befunden von LACKO *et al.*⁸ (Tabelle I) folgt, dass der maximale Glucose-Flux in unvorbeladene Zellen weniger als halb so gross ist, wie der maximale Efflux in glucosefreies Medium. Nach Gleichung 16a,b ist also R_{0a}/R_{a0} etwa 0.4. Bei Symmetrie müssten Influx und Efflux gleich sein und der Quotient der beiden Widerstandsgrössen müsste gleich eins sein. Aus den Gleichungen 18a und 20a folgt, dass die Michaeliskonstante für den Influx von Glucose in vorbeladene Zellen gleich dem Wert sein muss, der aus der Hemmung des Glucose-Nettofluxes aus vorbeladenen Zellen durch unterschiedliche Aussenkonzentrationen von Glucose gewonnen wird. Der mit diesem Verfahren von SEN UND WIDDAS¹ bestimmte Wert stimmt gut mit dem von LACKO *et al.*⁸ für den Influx in stark vorbeladene Zellen überein. Ein gravierender Widerspruch zum symmetrischen Carrier-Modell ist, dass der Wert etwa eine Grössenordnung kleiner ist als die Michaeliskonstante für den Isotopenflux im Gleichgewicht. Er dürfte nach dem symmetrischen Carrier-Modell jedoch nicht kleiner als die Hälfte dieses Wertes sein. Nach den Gleichungen 18a und 19 ergibt sich aus den Michaeliskonstanten: $R_{0a}/R_{0o} = 0.1$ bis 0.2. Dieser Wert ist sehr ungenau, da die Bedingung dass die Innenkonzentration unendlich gross ist, nicht erfüllt ist, wie die Maximalgeschwindigkeiten zeigen, die für Austausch und Gleichgewicht gleich sein müssten. Aus den Michaeliskonstanten für den Influx in unvorbeladene Zellen und für den Influx im Gleichgewicht folgt nach den Gleichungen 17a und 19, dass $R_{aa}/R_{a0} = 0.08$ ist. Für die Translokationswiderstände muss demnach gelten $R_{0o} > R_{a0} > R_{0a} > R_{aa}$. Die Abweichung zwischen diesen nach LACKO *et al.*⁸ bestimmten Werten für die Widerstände und der Gleichung 11 für Glucose: $R_{aa} + R_{0o} = R_{a0} + R_{0a}$ ist vermutlich auf die Ungenauigkeit in der Bestimmung des Wertes R_{0a}/R_{0o} zurückzuführen.

Eine Erklärung für die Anomalien beim Austausch zwischen Glucose, Galaktose und Mannose, die MILLER⁴ beschrieben hat, liefert das asymmetrische Carrier-Modell ebenfalls. Die Daten von MILLER⁴ sind in Tabelle II zusammengestellt zusammen mit den aus ihnen errechneten Translokationswiderständen. Aus den Daten folgt nach Gleichung 11

$$\text{Für Glucose-Galaktose: } R_{ba} + R_{ob} - R_{bb} - R_{oa} = -1.5 \pm 1.6$$

$$\text{Für Glucose-Mannose: } R_{ca} + R_{oc} - R_{cc} - R_{oa} = -1.3 \pm 1.2$$

Die Ausdrücke sind also innerhalb der Fehlergrenzen nicht von null verschieden.

TABELLE II

MAXIMALGESCHWINDIGKEITEN UND TRANSLOKATIONSWIDERSTÄNDE FÜR DEN AUSTAUSCH ZWISCHEN VERSCHIEDENEN ZUCKERN NACH MILLER⁴

'-Seite: Aussenmedium; ''-Seite: Zellinneres.

'-Seite	''-Seite	J_{max} (mM/min)	R (min/M)
o	Glucose	100 ± 9	10.0 ± 0.9
Glucose	Glucose	190 ± 20	5.3 ± 0.6
Glucose	Glucose	190 ± 20	5.3 ± 0.6
Mannose	Glucose	260 ± 2	3.8 ± 0.1
Galaktose	Glucose	250 ± 20	4.0 ± 0.3
o	Mannose	95 ± 5	10.5 ± 0.6
Mannose	Mannose	170 ± 10	5.9 ± 0.3
o	Galaktose	80 ± 7	12.5 ± 1.1
Galaktose	Galaktose	125 ± 10	8.0 ± 0.6

Bei Symmetrie müssten die folgenden Ausdrücke ebenfalls null werden. Dies ist nicht gegeben.

$$\text{Für Glucose-Galaktose: } 2 R_{ba} - R_{bb} - R_{aa} = -5.3 \pm 1.0$$

$$\text{Für Glucose-Mannose: } 2 R_{ca} - R_{cc} - R_{aa} = -2.6 \pm 0.7$$

Nicht erklärt werden kann der Befund von MILLER⁴, dass die Inhibitorkonstante von Glucose auf den Sorbose-Flux etwa 20 mM ist, die Michaeliskonstante für den Isotopenflux im Gleichgewicht jedoch 38 mM. Diese beiden Werte müssten jedoch nach den Gleichungen 19 und 22a gleich sein.

Die Counter-Transport-Zeitkurve nach MILLER⁵ kann mit den Gleichungen 23a,b richtig beschrieben werden. Die Gleichungen werden graphisch gelöst. Zur Berechnung wurden die aus den experimentellen Befunden von LACKO *et al.*⁸ berechneten Translokationswiderstände und die scheinbare Dissoziationskonstante verwandt. Die errechnete Kurve ist in Abb. 2 dargestellt, zusammen mit den experimentellen Befunden von MILLER⁵. Zum Vergleich wurden ebenfalls die von MILLER⁵ und LIEB UND STEIN¹⁰ berechneten Kurven eingezeichnet. Die Abbildung zeigt, dass das asymmetrische Carrier-Modell, im Gegensatz zum symmetrischen Carrier-Modell und dem Modell von LIEB UND STEIN¹⁰, die Zeitkurve qualitativ richtig beschreibt.

Eine endgültige Entscheidung über das Modell ist zur Zeit nicht möglich.

Es ist denkbar, dass asymmetrische Transporteigenschaften von Zellmembranen bei passiven Systemen nicht nur für das hier diskutierte System des Zuckertransportes am menschlichen Erythrozyten vorliegen. Es kann physiologisch sinnvoll sein, dass Influx und Efflux unterschiedlich sind. Im Extremfall ist es denkbar, dass der Flux praktisch nur in einer Richtung möglich ist. Das System würde dann wie ein Gleichrichter wirken. Wenn die Asymmetrie durch Effektoren beeinflusst werden kann, so kann das System wie ein Ventil wirken, dass je nach Bedarf einen Flux ermöglicht oder unterbindet.

Eine anschauliche Erklärung solcher Effekte ermöglicht das Modell von HEINZ *et al.*^{12,13}. Es ist in der Formulierung des Carrier-Modells mit den Translokationswider-

ständen R und den scheinbaren Dissoziationskonstanten K enthalten. Die Autoren nehmen an, dass der Carrier in zwei Zuständen x und y vorliegt, die im Gleichgewicht miteinander stehen. Die Gleichgewichtskonstanten können für beide Seiten der Membran unterschiedlich sein.

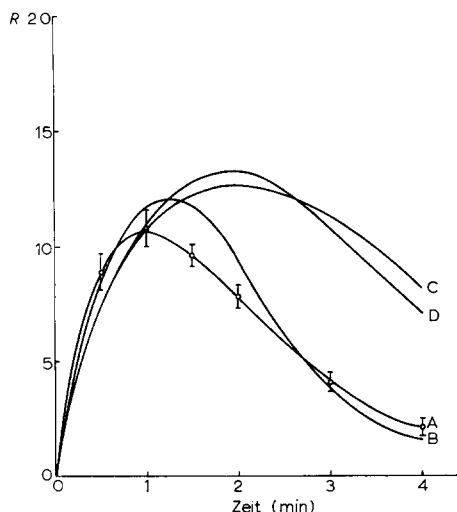


Fig. 2. Counter-Transport-Experiment für Glucose. A, Versuchsdaten von MILLER^{4,5}; B, Errechnete Kurve nach dem asymmetrischen Carrier-Modell mit Werten von LACKO *et al.*⁸. C, Errechnete Kurve von MILLER⁵; D, Errechnete Kurve von LIEB UND STEIN¹⁰. R : Verteilungsquotient der markierten Glucose $([^{14}\text{C}]\text{Glucose})_{\text{innen}}/([^{14}\text{C}]\text{Glucose})_{\text{außen}}$.

Hier soll nur ein Extremfall qualitativ erörtert werden. Die Form y sei impermeabel und habe keine Affinität zum Substrat. Gleichgewicht zwischen x und y liege an der Aussenseite der Membran auf der Seite von x und an der Innenseite der Membran auf der Seite von y . Ist auf beiden Seiten der Membran kein Substrat vorhanden, so wird der Grossteil der Carrier-Moleküle als y auf der Innenseite der Membran vorliegen, da die Konzentrationen der permeablen Form x auf beiden Seiten der Membran gleich sein müssen. Ist auf der Aussenseite Substrat vorhanden, so kann es nur an den geringen Anteil der Carrier-Moleküle gebunden werden, die sich an der Aussenseite befinden. Der Flux wird also relativ gering sein. Ist auf der Innenseite der Membran Substrat vorhanden, so bindet es sich an den ebenfalls geringen Anteil der Carrier-Moleküle in der x -Form, die an der Innenseite der Membran vorliegen. Dadurch wird jedoch das Gleichgewicht zwischen x und y gestört und es geht y in x über. Unter Sättigungsbedingungen auf der Innenseite ist kein y mehr vorhanden. Der Flux wird also relativ hoch sein. Wenn die bevorzugte Form y auf der Aussenseite der Membran ist, so gilt das entgegengesetzte.

Kann das Gleichgewicht zwischen x und y durch Effektoren beeinflusst werden, so gibt dies eine Möglichkeit für die Regulation eines passiven Transportsystems.

DANK

Ich danke Herrn Dr. L. Lacko und Frau Dr. H. Kromhardt für kritische Diskussion des Modells.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt (He 102/12).

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Untersuchung des Transportes von Zuckern am menschlichen Erythrozyten durch zahlreiche Autoren lieferte einige Befunde, die im Widerspruch zum symmetrischen Carrier-Modell stehen. Influx und Efflux können bei gleichem Betrag aber entgegengesetzter Richtung des Konzentrationsgradienten verschieden sein. Die K_m des Influxes von Glucose in vorbeladene Zellen ist eine Größenordnung kleiner als die K_m für den Isotopenflux im Gleichgewicht. Der Austausch zwischen Glucose, Galaktose und Mannose und Counter-Transport-Experimente für Glucose können nicht quantitativ erklärt werden.

2. Es wird ein asymmetrisches Carrier-Modell beschrieben, das diese Widersprüche ausräumen soll. Es fordert unterschiedliche Dissoziationskonstanten auf beiden Seiten der Membran. Ferner sollen die Translokationswahrscheinlichkeiten des freien Carriers und des Carrier-Substrat-Komplexes von der '-Seite zur ''-Seite von den entsprechenden Translokationswahrscheinlichkeiten von der ''-Seite zur '-Seite verschieden sein.

3. Die Gleichungen werden mit scheinbaren Dissoziationskonstanten und Translokationswiderständen formuliert. In dieser Form sind keine Einschränkungen mehr erforderlich, damit das Modell nicht gegen den 2. Hauptsatz der Thermodynamik verstösst.

4. An Hand der Befunde verschiedener Autoren wird gezeigt, dass sich die Widersprüche zum symmetrischen Carrier-Modell beseitigen lassen.

5. Die physiologische Bedeutung von asymmetrischen Transporteigenschaften von Zellmembranen wird diskutiert. Die Möglichkeit einer Regulation von passiven Transportvorgängen über die Änderung von Symmetrieeigenschaften wird angedeutet.

LITERATUR

- 1 A. K. SEN UND W. F. WIDDAS, *J. Physiol. London*, 160 (1962) 392.
- 2 M. LEVINE UND W. D. STEIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 127 (1966) 179.
- 3 R. C. MAWE UND H. G. HEMPLING, *J. Cell. Comp. Physiol.*, 66 (1965) 95.
- 4 D. M. MILLER, *Biophys. J.*, 8 (1968) 1329.
- 5 D. M. MILLER, *Biophys. J.*, 8 (1968) 1339.
- 6 M. LEVINE, D. L. OXENDER UND W. D. STEIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 109 (1965) 151.
- 7 L. LACKO UND M. BURGER, *J. Biol. Chem.*, 238 (1963) 3478.
- 8 L. LACKO, B. WITTKÉ UND H. KROMPHARDT, (1971) in Vorbereitung.
- 9 R. J. NAFTALIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 211 (1970) 65.
- 10 W. R. LIEB UND W. D. STEIN, *Biophys. J.*, 10 (1970) 585.
- 11 D. M. REGEN UND H. E. MORGAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 79 (1964) 151.
- 12 E. HEINZ, W. WILBRANDT UND P. GECK, (1971) in Vorbereitung.
- 13 E. HEINZ, in L. HOKIN, *Metabolic Transport*, Academic Press, New York, 1971, im Druck.