

## BERICHTE

## Die Rolle der Mitochondrien bei Oxydations- und Phosphorylierungsprozessen

Von ALBERT L. LEHNINGER, Universität Chicago

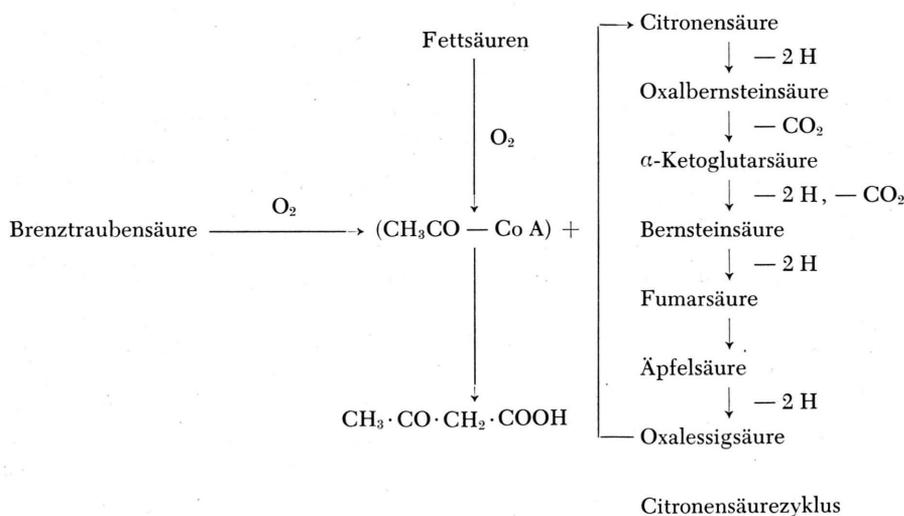
z. Zt. Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt a. M.

(Z. Naturforschg. 7 b, 256—260 [1952]; eingegangen am 14. Dezember 1951)

Im Jahre 1913 beobachtete Warburg<sup>1</sup>, daß diejenigen Bestandteile der Zelle, die nötig sind, um molekularen Sauerstoff zu verwerten, fast vollständig an die unlösbaren körnigen Elemente eines Gewebsbreies gebunden sind. Seitdem haben viele beobachtet, daß nicht nur das Atmungsferment von Warburg — die Cytochromoxydase —, sondern auch die sehr komplexen Enzymsysteme, die den Citronensäurezyklus und die Oxydation der Fettsäuren katalysieren, an die körnigen, leicht zentrifugierbaren Elemente von Gewebsextrakten gebunden sind.

kennt, da die Schwierigkeiten der Trennung dieser Enzyme von unlöslichen Zellkomponenten noch nicht vollständig überwunden sind.

Seit sechs Jahren studieren wir in unserem Laboratorium das komplexe Enzymsystem der Leber, das die Fettsäuren oxydiert<sup>2, 3, 4</sup>. Der unlösliche, leicht zentrifugierbare Teil eines Leberhomogenates in isotonischer Kochsalzlösung, der mehrmals mit kalter isotonischer Kochsalzlösung gewaschen wurde, katalysiert die Oxydation der Fettsäuren in Anwesenheit von Adenosintriphosphat (ATP), Mg<sup>++</sup>, anorganischem Phosphat und Sauerstoff,



Oxydationswege für Fettsäuren und Brenztraubensäure in gewaschenem Leberhomogenat (bzw. Mitochondrien).

Im Gegensatz dazu können die Fermente der Glykolyse aus verschiedenen Zelltypen leicht in löslicher Form extrahiert werden. Dadurch war es möglich, die Fermente der Glykolyse in sehr reinem Zustand zu gewinnen und die intermediären Reaktionen der Glykolyse kennenzulernen. Dagegen sind diejenigen Enzyme und chemischen Zwischenstufen, die an der Atmung und an der begleitenden Phosphorylierung teilnehmen, nicht so gut be-

unter Aufnahme von Sauerstoff und Bildung von Acetessigsäure. Solche einfachen Präparate von Leberpartikeln katalysieren auch den zyklischen, oxydativen Abbau von Brenztraubensäure, d. h. den Citronensäurezyklus, der mit dem Abbau der Fettsäuren<sup>3</sup> in Verbindung steht.

Die Fettsäuren werden über eine Zwischenstufe von Essigsäureresten abgebaut. Solche Essigsäurereste (wahrscheinlich Komplexe mit dem Coenzym A<sup>5</sup>) können entweder miteinander, unter Bildung von Acetessigsäure, oder mit Oxalessigsäure unter Bildung von Citronensäure

<sup>1</sup> O. Warburg, Pflügers Arch. ges. Physiol. **154**, 599 [1913].

<sup>2</sup> A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry **161**, 437 [1945].

<sup>3</sup> A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry **164**, 291 [1946].

<sup>4</sup> A. L. Lehninger u. E. P. Kennedy, J. biol. Chemistry **173**, 753 [1948].

<sup>5</sup> F. Lynen u. E. Reichert, Angew. Chem. **63**, 47 [1951].

reagieren. Dadurch können sie in den Citronensäurezyklus eintreten und unter Bildung von Kohlendioxyd und Wasser vollständig abgebaut werden<sup>3</sup> (vgl. Schema S. 256).

Der Citronensäurezyklus ist also ein allgemeiner Weg für die Oxydation von Essigsäureresten, die nicht nur aus Fettsäuren und Brenztraubensäure, sondern auch aus dem Abbau von Aminosäuren stammen. Dieser Zyklus kann daher als der allgemeine Hauptprozeß der biologischen Oxydationen — wenigstens in einigen tierischen Organen — betrachtet werden.

Dieses Bild ist aber nur ein Teil des ganzen Prozesses. Nachdem von diesen verschiedenen Substraten die Wasserstoffatome durch Dehydrasen enzymatisch entfernt worden sind, müssen sie oder ihre entsprechenden Elektronen eine lange Stufenleiter von Elektronentransportenzymen durchlaufen, bis die Elektronen schließlich unter Mitwirkung des Atmungsfermentes Sauerstoff reduzieren. Während dieses Prozesses wird eine große Energiemenge frei. Von Kalckar<sup>6</sup>, Belitser<sup>7</sup> und vielen anderen Forschern<sup>8, 9, 10</sup> ist gezeigt worden, daß ein großer Teil dieser freigewordenen Energie wieder als die Energie der Phosphatbindungen von Adenosintriphosphat zurückgewonnen wird. Denn mit dem Elektronentransport ist ein enzymatischer Phosphorylierungsprozeß gekoppelt, bei dem anorganisches Phosphat mit Adenylsäure oder Adenosindiphosphat verbunden wird. Die enzymatischen Einzelheiten dieser oxydativen Phosphorylierung sind noch nicht bekannt, jedoch weiß man heute, daß mindestens 60% der Energielieferung aus dem Elektronentransport als ATP-Energie wiedergewonnen wird. Die oben beschriebenen unlöslichen Leberpartikelchen, die die Fähigkeit haben, Brenztraubensäure und Fettsäuren zu oxydieren, katalysieren auch die oxydativen Phosphorylierungsprozesse, und zwar mit maximalem Wirkungsgrad. Diese Leberpartikel enthalten also komplizierte Enzymsysteme, die vielleicht aus Hunderten einzelner Enzyme bestehen, die harmonisch zusammenwirken.

Nachdem wir diese Beobachtungen über die enzymatischen Fähigkeiten solcher Leberpartikel gemacht hatten, versuchten wir, einzelne Fermente des Fettsäureoxydasekomplexes von diesen Partikeln zu trennen. Wir interessierten uns für die chemische Natur der Zwischenstufen des Fettsäureabbaus und fanden bei dem Versuch, solche Zwischenstufen zu fassen, daß das ganze System sehr unbeständig ist. Die Fähigkeit dieser Partikel, Fettsäuren zu oxydieren und die oxydative Phosphorylierung zu katalysieren, verschwindet nach einer Inkubationsperiode von 15 Min. bei Körpertemperatur in Abwesenheit von Sauerstoff und Substrat. Merkwürdig ist auch, daß alle Enzyme fest an diese Partikel gebunden sind. Man kann sie viele Male mit kalter isotonischer Kochsalzlösung waschen, ohne daß sie ihre Aktivität verlieren. Am bedeutungsvollsten und interessantesten aber war die Be-

obachtung, daß die Aktivität der Leberpartikel streng vom osmotischen Druck abhängig ist<sup>4, 11</sup>. Wenn man solche Partikel aus Homogenaten in destilliertem Wasser präparierte, so zeigten sie keinerlei Aktivität. Wurden einem frischen isotonischen Präparat Lösungen von verschiedenen osmotischen Drucken zugesetzt, dann war die Aktivität im isotonischen Medium am höchsten, im stark hypo- oder hypertotonischen Medium dagegen nur gering. Wir hielten es daher für sehr wahrscheinlich, daß dieses komplexe hochorganisierte Enzymsystem an osmotisch empfindliche Zellstrukturen gebunden ist, d. h. entweder an den Zellkern, an die Mitochondrien (die sogenannten „large granules“ des Cytoplasmas) oder die Mikrosomen (die sog. submikroskopischen Partikel des Zytoplasmas).

Von zytologischer Seite wurde schon im Jahre 1895 von Altmann<sup>12</sup> angenommen, daß die verschiedenen Atmungs- und Stoffwechselforgänge in den zytoplasmatischen Partikeln der Zelle stattfinden. Die experimentelle Identifizierung solcher Zellstrukturen als Orte von Stoffwechselforgängen begann erst 1934 mit den Arbeiten von Bensley in Chicago<sup>13</sup>. Durch Differentialzentrifugieren von Leberhomogenaten in Wasser konnte Bensley Strukturen isolieren, die er als Zellkerne und Mitochondrien identifizierte, obwohl sie sicher nicht ganz intakt waren. Sein Verfahren wurde von Claude<sup>14</sup> und von Schneider<sup>15</sup> verbessert, indem sie isotonische Kochsalzlösung als Homogenisierungsmedium verwandten. Die auf diese Weise gewonnenen Mitochondrien unterscheiden sich von den Mitochondrien in intakten Zellen durch ihre Größe und Gestalt und geben nicht die charakteristische Vitalfärbung mit Janusgrün. Schneider und nach ihm andere Autoren fanden nun, daß solche beschädigten Mitochondrien trotzdem fast die gesamte Bernsteinsäure- und Cytochromoxydase-Aktivität der Zelle besitzen, während die Kerne nur Spuren davon zeigen. Dieser Befund führte zu der Vermutung, daß die komplizierten Prozesse des Citronensäurezyklus, der Fettsäureoxydation und der oxydativen Phosphorylierung in den Mitochondrien stattfinden, da diese Prozesse nur über die Cytochromoxydase ablaufen können.

Im Jahre 1948 gelang es Hogeboom, Schneider und Pallade, mit einem wesentlich verbesserten Verfahren unbeschädigte Mitochondrien aus Leberzellen zu isolieren<sup>16</sup>. Frische Rattenleber wird in 10 Vol. eiskalter isotonischer oder hypertotonischer Rohrzuckerlösung homogenisiert. Die Kerne werden bei 600 g abzentrifugiert. Aus der überstehenden Flüssigkeit setzen sich die Mitochondrien bei 20 000 g zu Boden. Die submikroskopischen Partikel werden erst bei 40 000 bis 50 000 g abgeschieden. Jede Fraktion wird mit Rohrzuckerlösung gewaschen, um Spuren der vorhergehenden Fraktion zu beseitigen. Die auf diese Weise gewonnenen Mitochondrien sind stabförmig und haben die Fähigkeit, mit Janusgrün zu

<sup>6</sup> H. Kalckar, *Enzymologia* **2**, 47 [1937].

<sup>7</sup> V. A. Belitser u. E. T. Tsibakova, *Biochimya* **4**, 516 [1939].

<sup>8</sup> S. Ochoa, *J. biol. Chemistry* **151**, 993 [1943].

<sup>9</sup> F. Lipmann u. D. E. Green, „*Currents in Biochemistry Research*“, New York 1946, S. 137.

<sup>10</sup> A. L. Lehninger u. S. W. Smith, *J. biol. Chemistry* **181**, 415 [1949].

<sup>11</sup> V. R. Potter, *J. biol. Chemistry* **163**, 437 [1946].

<sup>12</sup> R. Altmann, „*Elementarorganismen*“, Leipzig 1890.

<sup>13</sup> R. R. Bensley u. N. L. Hoerr, *Anatom. Rec.* **60**, 251 [1934].

<sup>14</sup> A. Claude, *J. exp. Med.* **84**, 51, 61 [1946].

<sup>15</sup> W. C. Schneider, *J. biol. Chemistry* **165**, 585 [1946].

<sup>16</sup> G. H. Hogeboom, W. C. Schneider u. G. E. Pallade, *J. biol. Chemistry* **172**, 619 [1948].

Fraktion	Länge oder Durchmesser	Zentrifugieren		N in % des Gesamt-N	Ribonucleinsäure in % der Gesamt-RNS	Bernsteinsäure- oxydase in % der Gesamt-BSO
		Feld g	Zeit Min.			
Kerne	50—100 $\mu$	600	10	15	10	10
Mitochondrien	1—3 $\mu$	20000	20	30	25	90
Mikrosomen	0,06—0,15 $\mu$	40000	120	15	40	0
Löslicher Teil	—	—	—	40	25	0

reagieren. Daher werden sie als intakte native Mitochondrien angesehen. Sie besitzen ebenfalls fast die gesamte Bernsteinsäureoxydase- und Cytochromoxydaseaktivität der Zelle. Eigenschaften und Verteilung von enzymatischer Aktivität, Gesamtstickstoff und Nucleinsäuren in den verschiedenen Fraktionen sind in der vorstehenden Tabelle angegeben.

Die verschiedenen Fraktionen, die man mittels dieses Rohrzuckerverfahrens und auch mit dem früheren Verfahren von Claude und Schneider gewinnt, haben wir auf ihre Aktivität geprüft — nicht nur hinsichtlich der Cytochromoxydase und Bernsteinsäureoxydase, sondern auch auf ihre Fähigkeit, Fettsäuren abzubauen, den gesamten Citronensäurezyklus zu katalysieren und die oxydative Phosphorylierung zu bewirken. Obwohl die mit Hilfe des früheren Verfahrens von Claude und Schneider gewonnenen Mitochondrien fast alle Bernsteinsäure- und Cytochromoxydase enthielten, zeigten sie keinerlei Wirksamkeit hinsichtlich der Oxydation von Fettsäuren und der Phosphorylierung. Die mit dem Rohrzuckerverfahren isolierten Mitochondrien konnten dagegen nicht nur den Citronensäurezyklus, sondern auch die Oxydation von Fettsäuren und die oxydative Phosphorylierung katalysieren. Die isolierten Zellkerne und Mikrosomen hatten im Gegensatz dazu keine Wirksamkeit, diese Prozesse zu katalysieren<sup>11</sup>. In den beiden folgenden Tabellen sind die Daten von zwei typischen Versuchen wiedergegeben.

1. Versuch: Die Oxydation von Caprylsäure (Octanol-säure) in Rattenleberfraktionen.

Die Fraktionen wurden bei gleichen Mengen Gesamt-N geprüft. Das Prüfungssystem enthielt 0,001 Mol Caprylsäure als Natriumsalz, 0,005 Mol  $MgCl_2$ , 0,05 Mol KCl, 0,001 Mol ATP, 0,01 Mol Phosphatpuffer vom  $p_H$  7,4,  $10^{-5}$  Mol Cytochrom-c und  $5 \times 10^{-4}$  Mol Succinat als „Zünder“. Gesamtvolumen 3,0 ml.  $30^\circ$ . 50 Min.

	Sauerstoff- aufnahme $mm^3$	Caprylsäure- aufnahme $mm^3$	Acet- essigsäure gebildet $mm^3$
Kerne	34	15	11
Mitochondrien	480	176	219
Mikrosomen	22	0	0
Löslicher Teil	4	0	0

2. Versuch: Die Aktivität des Citronensäurezyklus in Rattenleberfraktionen.

0,01 Mol Substrat, 0,005 Mol  $MgCl_2$ , 0,05 Mol KCl, 0,001 Mol ATP, 0,01 Mol Phosphatpuffer vom  $p_H$  7,4,  $10^{-5}$  Mol Cytochrom-c. Gesamtvolumen 3,0 ml.  $30^\circ$ . 30 Min.

Substrat	Sauerstoffaufnahme $mm^3$		
	Kerne	Mito- chondrien	Mikro- somen + lösl. Anteil
Citrat	11	180	8
$\alpha$ -Ketoglutarat	21	189	8
Pyruvat + Oxalacetat	28	199	8
Succinat	33	244	14
Malat	8	161	6
Leerversuch	8	14	6

Um die Phosphorylierungsaktivität zu bestimmen, mißt man die Zahl der anorganischen Phosphatmoleküle, die pro Atom aufgenommenem Sauerstoff verestert wird. Dieses P:O-Verhältnis bedeutet also den thermodynamischen Wirkungsgrad der oxydativen Phosphorylierung. Die verschwundene Phosphorsäure wird als ATP wiedergewonnen, wenn ADP als Phosphatacceptor dient. Mit isolierten Mitochondrien, die Apfelsäure,  $\alpha$ -Ketoglutar-säure, Citronensäure usw. in Anwesenheit von Fluoridionen oxydieren, verschwinden etwa 3 Mol. Phosphorsäure, pro aufgenommenes Atom Sauerstoff. Das entspricht einem Wirkungsgrad von ungefähr 60%, dem höchsten, der je bei einem Enzympräparat beobachtet worden ist.

Weil die intakten Mitochondrien fast die gesamte Aktivität der Zelle an diesen komplizierten Reaktionen — nicht nur die organisierte oxydative Aktivität, sondern auch die der wichtigen Energierückgewinnungsprozesse der oxydativen Phosphorylierung — besitzen, und zwar in solchen Mengen, daß sie für die ganze Atmung der intakten Zelle leicht ausreichen, darf man schließen, daß die Mitochondrien die Kraftanlage der Zelle darstellen. Die mit den früheren Verfahren isolierten Mitochondrien, die nur einige einzelne oxydative Reaktionen, aber nicht die Phosphorylierung katalysieren können, sind wahr-

scheinlich durch die wenig schonende Behandlung geschädigt worden.

Die Aktivität der mit Hilfe des Rohrzuckerverfahrens gewonnenen Mitochondrien ist an die Anwesenheit von ATP,  $Mg^{++}$  und anorganischem Phosphat gebunden. Sie ist auch vom osmotischen Druck des Prüfungssystems abhängig, gerade wie die der früher beschriebenen Leberpräparate. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese letzteren aktiv waren, weil sie agglutinierte Mitochondrien enthielten.

Nun darf man aber nicht schließen, daß alle einzelnen Enzyme, die für den Ablauf dieser komplizierten Prozesse nötig sind, ausschließlich auf die Mitochondrien beschränkt sind. Man kann nur sagen, daß die Mitochondrien einen vollständigen Satz der einzelnen Fermente besitzen, und daß die Konzentration der einzelnen Fermente mehr als genügend ist für die bekannte Oxydationsgeschwindigkeit der ganzen Zelle. Man kann sich leicht vorstellen, daß die Zellkerne oder eine der anderen Fraktionen tatsächlich größere Mengen von einem oder mehreren einzelnen Fermenten besitzen, daß sie aber bei der Prüfung keine Aktivität zeigen können, weil ein Teil des Fermentensystems fehlt. Es kann z. B. im löslichen Anteil keine Cytochromoxydase gefunden werden; damit ist es für diese Fraktion unmöglich, molekularen Sauerstoff aufzunehmen, und die Probe für das Fettsäureoxydationssystem ist, wie zu erwarten, negativ. Leider ist es noch nicht möglich, alle verschiedenen Enzyme des Komplexes individuell zu prüfen, da die Zwischenstufen im einzelnen noch nicht gut bekannt sind. Das Wichtigste ist, daß nur die Mitochondrien ein vollständiges Enzymsystem besitzen<sup>18, 19</sup>.  $Q_{O_2}$  für isolierte Mitochondrien ist ungefähr —60 bis —80,  $Q_{O_2}$  für Leberschnitte ist etwa —5 bis —10.

Bis jetzt sind Mitochondrien aus Leber, Niere, Gehirn, Herzmuskel und verschiedenen Tumoren isoliert worden, und man hat bei ihnen allen die organisierte Oxydations- und Phosphorylierungsfähigkeit gefunden.

Jetzt erhebt sich die Frage, ob die bei den Mitochondrien beobachtete Fähigkeit, die wichtigsten Stoffwechsel- und Atmungsprozesse zu katalysieren, vielleicht nur durch gewisse nicht natürliche Vorgänge während des Isolierungsverfahrens hervorgerufen worden sein könnte. Man könnte sich z. B. vorstellen, daß die Mitochondrien bestimmte Fermente und Cofermente aus dem löslichen Teil des Cytoplasmas während der Isolierung unspezifisch adsorbieren.

Nun ist es unwahrscheinlich, daß ein großer Teil der vielen Fermente, die ohne Zweifel in diesem komplexen System zusammenwirken, unspezifisch und reproduzierbar an der Oberfläche der Mitochondrien adsorbiert wird. Dazu kommt, daß die einzelnen Enzyme des Systems so fest an die Mitochondrien gebunden sind, daß man diese viele Male mit Rohrzuckerlösung extrahieren kann, ohne daß sie ihre Aktivität verlieren. Es ist aber nicht aus-

geschlossen, daß einzelne andere Proteine an den Mitochondrien adsorbiert werden könnten. Diese Frage wurde vor kurzem mit isotopisch markiertem Cytochrom-c (Femerkert) untersucht<sup>20</sup>.

Die Mitochondrien spielen auch bei der Glykolyse eine Rolle. Da man heute alle glykolytischen Fermente als lösliche, weit gereinigte Proteine kennt, sollte man erwarten, daß die Fermente ausschließlich im löslichen Teil des Homogenats zu finden sind. Es sind zwar noch nicht alle auf ihre Anwesenheit in den einzelnen Zellfraktionen untersucht worden, aber die bisher überprüften fanden sich ausschließlich im löslichen Teil<sup>17</sup>. Trotzdem hat Le Page gefunden, daß die Geschwindigkeit der Glykolyse im löslichen Teil der Zelle durch Zusatz von Mitochondrien oder Mikrosomen beschleunigt wird<sup>21</sup>. Man kann daraus schließen, daß die Partikel Substanzen (vielleicht Cofermente) enthalten, die im löslichen Teil in so geringer Konzentration vorhanden sind, daß sie hier die Geschwindigkeit der Glykolyse begrenzen. Die Prüfung eines Enzymsystems in verschiedenen Zellfraktionen macht stets Schwierigkeiten, weil immer nur eine Komponente die Gesamtgeschwindigkeit bestimmt. Am besten wäre es, die Enzyme einzeln quantitativ zu prüfen, aber leider ist das bei komplizierten Prozessen noch nicht möglich.

Jetzt ist es Zeit, etwas über die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Mitochondrien auszusagen. Diese Körper haben Stab- oder filamentöse Form, die vom Zelltypus abhängig ist; Lebermitochondrien sind etwa 2—3  $\mu$  lang und ein halbes  $\mu$  breit. Diese asymmetrische Form kann auch aus der scharf hervortretenden Strömungs-Doppelbrechung von Mitochondrien in Aufschwemmungen ersehen werden. Wahrscheinlich gibt es mehrere Sorten von Mitochondrien, die verschiedene Größe, Form und vielleicht auch Funktion besitzen.

Werden Mitochondrien in einer isotonischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt, so agglutinieren sie und sind dann leicht zu zentrifugieren. Diese agglutinierten Mitochondrien sind in bezug auf die verschiedenen Oxydationen und Phosphorylierungen vollständig aktiv, aber es besteht die Ansicht, daß Mitochondrien in Salzlösung etwas beschädigt sind und daß ihre Permeabilität sich verändert<sup>22</sup>. Es ist möglich, daß die Agglutination zum Teil von freien  $Ca^{++}$ -Ionen verursacht wird;  $Ca^{++}$  ist als Agglutinierungsmittel sehr wirksam. Es wurde gefunden, daß verschiedene Substanzen, die  $Ca^{++}$  in nicht ionisierter Form binden, auch das Agglutinieren hemmen. Es ist heute bekannt, daß ein großer Teil der Mitochondrien eines Homogenats in isotonischer Kochsalzlösung zusammen mit der Zellkernfraktion sedimentiert (Schneider-Verfahren), weil die Mitochondrien agglutiniert waren.

Daß die Mitochondrien eine Membran besitzen, ist heute aus elektronenmikroskopischen Beobachtungen und aus Beobachtungen von selektiver Permeabilität<sup>19, 22</sup> höchst wahrscheinlich. Daraus soll man aber nicht schließen, daß die Mitochondrien aus einem Sack bestehen, der

<sup>17</sup> E. P. Kennedy u. A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry **179**, 957 [1949].

<sup>18</sup> A. L. Lehninger, in „Enzymes and Enzyme Systems“ ed. J. T. Edsall, Cambridge 1951.

<sup>19</sup> W. C. Schneider u. G. H. Hogeboom, Cancer Res. **11**, 1 [1951].

<sup>20</sup> H. Beinert, J. biol. Chemistry **190**, 287 [1951].

<sup>21</sup> G. A. Le Page u. W. C. Schneider, J. biol. Chemistry **176**, 1021 [1949].

<sup>22</sup> Ch. de Duve, T. Berthelet, L. Berthelet u. F. Appelmans, Nature [London] **167**, 389 [1951].

nur mit einer Lösung von Enzymen gefüllt ist. Es ist wahrscheinlicher, daß sie wirklich als organisierte Strukturen mit einer unlöslichen Matrize existieren, weil die Proteine nicht leicht in echte Lösung gehen.

Die Mitochondrien enthalten neben viel Eiweiß größere Mengen von Phospholipoiden, Ribonucleinsäure und „Phosphoprotein“. Diese letztgenannten säureunlöslichen Phosphatverbindungen der Mitochondrien stehen in Beziehung zur oxydativen Phosphorylierung. Bei der Veresterung von anorganischem mit  $^{32}\text{P}$  markiertem Phosphat während der oxydativen Phosphorylierung beobachteten wir, daß  $^{32}\text{P}$  nicht nur in die ATP, sondern auch in diese säureunlösliche Verbindung eintritt, und zwar mit solcher Geschwindigkeit, daß die Mitochondrien leicht für den gesamten Umsatz der Phosphatgruppen dieser Verbindungen in der intakten Leber *in vivo* verantwortlich gemacht werden können<sup>23</sup>.

Die Eiweißkörper der Mitochondrien sind von Interesse, weil sie viele Katalysatoren enthalten. Die Verteilung der Aminosäuren in den Mitochondrien gleicht der in der ge-

<sup>23</sup> M. Friedkin u. A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry **177**, 795 [1949].

<sup>24</sup> B. S. Schweigert et al., Proc. Soc. exp. Biol. Med. **72**, 495 [1949].

<sup>26</sup> R. K. Morton, Nature [London] **166**, 1092 [1950].

samen Leber<sup>24</sup>. Die Eiweißkörper sind nur sehr schwer in Lösung zu bringen. Die Mitochondrien selbst sind nur zu lösen, indem man sie durch Ultraschall zerstört<sup>25</sup> oder Butanol-Wasser-Systeme anwendet, die die Fähigkeit haben, Lipoproteide zu spalten<sup>26</sup>. Bei diesen Verfahren geht die Phosphorylierungsfähigkeit wahrscheinlich verloren, dagegen bleiben verschiedene Oxydasen unbeschädigt<sup>25, 26</sup>.

Schneider und Hogeboom haben einen wichtigen Überblick über die intrazelluläre Verteilung von weiteren Enzymen und verschiedenen anderen Bestandteilen der Zelle gegeben<sup>25</sup>.

Schließlich soll noch erwähnt werden, daß ähnliche Körperchen, die Granula der Chloroplasten, in chlorophyllhaltigen pflanzlichen Zellen vorkommen, und daß diese Granula die Fähigkeit besitzen, Sauerstoff zu bilden, wenn sie in Anwesenheit von Wasserstoffakzeptoren belichtet werden<sup>27</sup>.

Es ist zu hoffen, daß weitere Untersuchungen die Beziehungen zwischen der Struktur und den enzymatischen Eigenschaften der Mitochondrien aufklären werden.

<sup>25</sup> G. H. Hogeboom u. W. C. Schneider, Nature [London] **166**, 302 [1950].

<sup>27</sup> O. Warburg u. W. Lüttgens, Naturwiss. **32**, 161, 301 [1944].

## BESPRECHUNGEN

**Substances Naturelles de Synthèse.** Préparations et Méthodes de Laboratoire. Collection Publiée sous la Direction de Léon Velluz, Verlag Masson et Cie., Paris 1951. Vol. I: 136 S. mit 2 Abb.; Preis f.fr. 1200.—. Vol. II: 138 S. mit 4 Abb.; Preis f.fr. 1250.—. Vol. III: 156 S. mit 3 Abb.; Preis f.fr. 1500.—.

Zur Darstellung organischer Präparate existieren zahlreiche bewährte Vorschriftensammlungen, mit Naturstoffen befassen sich dagegen lediglich die Biochemical Preparations, deren Vorschriften aber mehr die Isolierung aus natürlichen Materialien als die Synthesen behandeln. Es besteht also ein entschiedenes Bedürfnis nach einer Zusammenstellung von Synthesen natürlicher und physiologisch interessanter Substanzen, so daß die neue, von Léon Velluz herausgegebene Reihe Substances Naturelles de Synthèse von vornherein auf großes Interesse bei Chemikern und Biochemikern stoßen wird. Velluz versteht dabei unter Synthesen im Falle der Steroidhormone auch deren Partialsynthesen. Nach dem bewährten Prinzip der Organic Syntheses stellt sein Werk keine reine Kompilation dar, vielmehr sind alle beschriebenen Methoden in den Laboratorien des Herausgebers nachgearbeitet worden. Wenn auch auf diese Art manche Synthese (z. B. bei Tryptophan) nicht gebracht worden ist, so hat man doch die beruhigende Gewißheit, nur bewährte Vorschriften zu finden. In der Disposition dagegen unterscheidet sich die neue Buchreihe in charakteristischer Weise von ähnlichen Sammelwerken: Jeder Band ist in drei Abschnitte unterteilt: Präparate, Methoden und praktische Winke. Im ersten Abschnitt werden detaillierte Vorschrif-

ten gegeben, ergänzt durch theoretische Betrachtungen (Beispiel: Erläuterung der Threo-Erythro-Isomerie im Falle des Chloramphenicols), der zweite Abschnitt bringt im Anschluß an die Präparate des ersten Abschnitts allgemeine chemische Methoden, und der dritte Abschnitt bringt allerhand Winke für die Laboratoriumspraxis.

Im einzelnen bringt der I. Band Vorschriften für die Darstellung von Ascorbinsäure, Adenin,  $^{15}\text{N}$ -markiertem Adenin, Adenosin, Chloramphenicol (Chloromycetin), Äsculosid, *d,l*-Histidin und *l*-Tryptophan. Es folgen allgemeine Betrachtungen über Ringschlußreaktionen, die zu den Gerüsten des Cumarins und Pyrimidins führen, während sich der dritte Abschnitt mit Reinigung und Entwässerung der gebräuchlichsten Lösungsmittel und mit der Wasserbestimmung nach K. Fischer befaßt.

Der II. Band bringt die Darstellung von Adenylsäure, *d,l*-Asparaginsäure, Desoxycorticosteron, *d,l*-Lysin, *d,l*-Methionin, Progesteron, *l*-Threonin und *l*-Thyroxin. Unter „Methoden“ werden die Oxydation nach Oppenauer und Abscheidungsverfahren für Carbonylderivate abgehandelt. Im Schlußabschnitt werden die Darstellungen der gebräuchlichsten Carbonylreagenzien zusammengefaßt und die Isolierungsmöglichkeiten von Ketonen (Methoden von Girard, Anchel u. Schönheimer, Velluz u. a.) besprochen.

Der III. Band bringt als Präparate *d,l*-Glutaminsäure, *d,l*-Dioxyphenylalanin, Equilenin, Östradiol, Östron, *d,l*-Ornithin, Thiamin (Aneurin) und Oxythiamin. Der Abschnitt „Methoden“ umfaßt allgemein Ringschlußreaktionen zum Thiazolgerüst und Synthesen von  $\alpha$ -Amino-