

Birkmayer, G. D., W. Sebald und Th. Bücher

Cytochrom-Oxydase und ein an diese assoziiertes, markiertes Protein aus ^{14}C -markierten Mitochondrien von *Neurospora crassa*

Inst. f. Physiol. Chemie u. Physikal. Biochemie d. Univ. München

Aus in vitro und in vivo in Gegenwart von Cycloheximid markierten Mitochondrien von *N. crassa* wurde mit Hilfe von Triton X-100 und durch Fraktionierung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ Cytochrom-Oxydase isoliert. Die Präparation wurde bezüglich ihrer spezif. Radioaktivität mit einer nach der üblichen Cholat-Desoxycholat-Methode hergestellten Cytochrom-Oxydase verglichen. Bei in vitro markierten Mitochondrien war die nach beiden Methoden dargestellte Cytochrom-Oxydase nicht signifikant markiert, die Radioaktivität war vielmehr an Detergens-unlösliche oder sehr schwer lösliche, uncharakterisierte Mitochondrienproteine gebunden. Ähnliche Befunde erhielten wir auch bei Solubilisierung von in vivo markierten Mitochondrien mit Cholat und Desoxycholat.

Bei Behandlung von in vivo markierten Mitochondrien mit Triton X-100 gelang es dagegen, 90% der mitochondrial gebundenen Radioaktivität zu solubilisieren und diese in einer Cytochrom *b* und Cytochrom-Oxydase enthaltenden Fraktion anzureichern. Durch Chromatographie auf DEAE-Cellulose konnte diese Fraktion in fünf Proteine aufgetrennt werden, von denen 2 als spektroskopisch reines Cytochrom *b* bzw. Cytochrom-Oxydase charakterisiert werden konnten. Die auf diese Weise gereinigte enzymatisch aktive Cytochrom-Oxydase hatte nur noch ein Viertel der spezifischen Radioaktivität der markierten Mitochondrien. Zwei weitere Proteine, die von der DEAE-Säule eluiert werden konnten, zeigten zum Unterschied zu Cytochrom-Oxydase eine Anreicherung der spezifischen Radioaktivität. Die Funktion dieser Proteine als Produkt der mitochondrialen Proteinsynthese und bei der Biogenese der inneren Mitochondrienmembran wird diskutiert.

Adresse: Dr. G. D. BIRKMAYER, D-8 München 15, Goethestraße 33.

Brdiczka, D., K. Gerbitz und D. Pette

Lokalisierung der Carnitin-Acetyltransferase in Mitochondrien

Fachbereich Biologie d. Univ. Konstanz

Subfraktionierung von Mitochondrien aus Rattenleber mit der „Digitonin-Methode“¹ führte zum Nachweis von Aktivität der Carnitin-Acetyltransferase (EC2.3.1.7) in zwei verschiedenen Kompartimenten: Der größte Teil der Aktivität dieses Enzyms ist im inneren mitochondrialen Kompartiment lokalisiert, gemeinsam mit den löslichen Enzymen des Citrat-Zyklus, der Fettsäure-

Oxydation und einigen Enzymen des Aminosäure-Metabolismus². Mindestens 25% der Gesamtktivität der Carnitin-Acetyltransferase finden sich jedoch im äußeren mitochondrialen Kompartiment, in welchem die mitochondriale Adenylat-Kinase lokalisiert ist³.

Die Funktion der inneren und äußeren Aktivität der Carnitin-Acetyltransferase wurde an Nierenmitochondrien durch Messung der Carnitin-abhängigen Oxydation von Acetyl-CoA studiert: Extraktion der äußeren Aktivität der Carnitin-Acetyltransferase nach Behandlung der Mitochondrien mit niedrigen Digitoninkonzentrationen verursacht eine deutliche Herabsetzung der Oxydationsrate von Acetyl-CoA in Gegenwart von Carnitin. Die normale Oxydationsrate für Acetyl-CoA + Carnitin kann in Digitonin-behandelten Mitochondrien teilweise wieder erreicht werden durch Zusatz der zuvor extrahierten äußeren Aktivität der Carnitin-Acetyltransferase. Carnitin und Acetyl-CoA allein werden von Digitonin-behandelten Nierenmitochondrien unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht veratmet. Es wurde aus den Versuchsergebnissen geschlossen, daß die innere mitochondriale Membran die Permeabilitätschranke für Acetyl-CoA bildet, und daß der Transport von Acetyl-CoA durch die Innenmembran durch reversible Bildung des Carnitinersters mit Hilfe der äußeren und inneren Carnitin-Acetyltransferase ermöglicht wird⁴.

¹ C. A. SCHNAITMAN u. J. W. GREENAWALT, *J. Cell Biol.* **32**, 719 [1967].

² C. A. SCHNAITMAN u. J. W. GREENAWALT, *J. Cell Biol.* **38**, 158 [1968].

³ G. L. SOTTOCASA, B. KUYLENSTIERNA, L. ERNSTER u. A. BERGSTRAND, *Methods in Enzymol.* **10**, 448 [1967].

⁴ A. M. T. BEENAKKERS u. P. T. HENDERSON, *Europ. J. Biochem.* **1**, 187 [1967].

Adresse: Dr. D. BRDICZKA, D-775 Konstanz, Postf. 733.

Portenhauser, R., G. Schäfer und R. Trolp

Zur Wirkung diabetogener Thiadiazine auf die mitochondriale Oxydation

Inst. f. Klin. Biochemie u. Physiolog. Chemie d. Med. Hochschule Hannover

Unter den Derivaten des 1.2.4-Benzothiadiazins verdienen das Diazoxid (3-Methyl-7-chlor-1.2.4-benzothiadiazin-1.1-dioxid), sowie einige Analoge besondere Aufmerksamkeit, da sie im Versuchstier diabetogene Wirkung entfalten. Diese wurde einerseits durch eine Hemmung der Insulinsekretion erklärt¹; andererseits konnten wir in früheren Arbeiten zeigen, daß durch Diazoxid die Oxydation von Succinat stark gehemmt wird². Es erscheint daher naheliegend, daß durch Diazoxid infolge einer verminderten Oxalacetatbildung eine generelle Hemmung des Umsatzes im Citratzyklus er-