

Nachweis der Zucker in den Thylakoiden von *Rhodospirillum rubrum* und *Rhodospseudomonas viridis*

G. DREWS

Lehrstuhl für Mikrobiologie, Universität Freiburg i. Br.

(Z. Naturforsch. 23 b, 671—675 [1968]; eingegangen am 7. Oktober 1967)

The thylakoids (chromatophores) of the sulfur-free purple bacteria *Rhodospirillum rubrum* contain 30% lipids soluble in methanol-chloroform, 46% protein, and 14% carbohydrates. 90% of the total sugar content was glucose, 4% fucose, 5% rhamnose. In the thylakoids of *Rhodospseudomonas viridis* 3,3% sugar was demonstrable (50% glucose, 17% galactose, 15% rhamnose and 17% mannose). 2-keto-3-desoxy-octonate is a structure component in both organisms. After treatment of thylakoids with phenol/water, the main sugar fraction was in the water phase, although in both organisms 3 to 4% of the protein fraction in the phenol phase consists of sugar.

Photosynthetisch aktive Bakterien enthalten charakteristische Membranstrukturen, die als Chromatophoren oder Thylakoide bezeichnet werden¹. Als wesentliche Bauelemente enthalten diese Membranen Proteine und Phospholipide². Eine Analyse der Proteinfractionen aus Thylakoiden verschiedener Prokaryonten und Eukaryonten hat eine weitgehende Übereinstimmung in der Aminosäure-Zusammensetzung ergeben¹. Dagegen bestehen Unterschiede in der Lipidzusammensetzung. Organismen, deren Photosynthese in zwei Lichtreaktionen abläuft und die zur Hill-Reaktion befähigt sind, besitzen in den Thylakoiden Sulfo- und Galaktolipide mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie der Linolensäure^{2, 3}. Bakterien dagegen, die nur die cyclische Photophosphorylierung betreiben, enthalten Vaccensäure (18 : 1) und einige gesättigte oder einfach ungesättigte Fettsäuren (C 14, 16 und 18)⁴. Sulfolipide fehlen oder kommen nur in Spuren vor⁵.

Gesamtanalysen verschiedener Thylakoidpräparate ergaben neben den genannten Komponenten einen Zuckeranteil von etwa 3—8 Prozent⁶. Nach den Untersuchungen von MENKE und Mitarb.^{7, 8} an Strukturproteinen aus Chloroplasten höherer Pflanzen gehören diese Zucker zur Glycoproteinfraktion. Von bakteriellen Präparaten liegen bisher nur Ge-

samtzuckerbestimmungen vor^{6, 9}. Da in diesen Analysedaten der prozentuale Anteil sehr stark schwankte und qualitative Angaben fehlten, haben wir zunächst die Zucker nach verschiedenen Extraktionsmethoden qualitativ und — so weit möglich — auch quantitativ bestimmt. Als Objekte wählten wir zwei Arten, die als systematisch weit voneinander entfernte Vertreter der Athiorhodaceen zu gelten haben²².

Methodik

1. Isolierung der Thylakoide

Die Bakterien wurden in der Nährlösung R8Ä¹⁰ bei 28 °C anaerob im Licht (2000 Lux; 100-W-Glühlampen) in Schraubdeckelflaschen kultiviert und am Ende der logarithmischen Wachstumsphase geerntet. Die in Trispuffer [Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, 0,1-m., pH 7,2 + 0,003-m. MgCl₂ + 0,017% KCl] gewaschenen Bakterien wurden in der French pressure cell bei einem Druck von 7 kp/cm² aufgeschlossen, 5 sec mit Ultraschall behandelt, um das Thylakoidreticulum zu zerstören, und durch Zentrifugation bei 15 000 g, 10 min in der Sorvall-Kühlzentrifuge von den unzerstörten Zellen abgetrennt. Aus dem Überstand wurde die Membranfraktion isoliert (Spinco L, Rotor 50, 120 000 g, 35 min). Das Sediment wurde in wenig Puffer aufgenommen und im Saccharosegradient aufgetrennt (*R. rubrum*, 5% → 35% Saccharose in Trispuffer ohne

¹ W. MENKE, S. 4 in l. c. ²

² T. W. GOODWIN (Ed.), *Biochemistry of Chloroplasts*. Vol. I, Acad. Press, London and New York 1966.

³ A. A. BENSON, *Advances Lipid Res.* 1, 387 [1963]; I. SHIBUYA, B. MARUO u. A. A. BENSON, *Plant Physiol.* 40, 1251 [1965].

⁴ F. HAVERKATE, F. A. G. TEULINGS u. L. L. VAN DEENEN, *Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.* [Amsterdam], *Proc.*, Ser. B. 68, 154 [1965]; A. T. JAMES u. B. W. NICHOLS, *Nature* [London] 210, 372 [1966]; J. LASCELLES u. J. F. SZILÁGYI, *J. gen. Microbiol.* 38, 55 [1965].

⁵ CH. E. PARK and L. R. BERGER, *J. Bacteriol.* 93, 221 [1967].

⁶ J. W. NEWTON and G. A. NEWTON, *Arch. Biochem. Biophys.* 71, 250 [1957]; J. LASCELLES, *J. gen. Microbiol.* 29, 47 [1962].

⁷ W. MENKE u. E. JORDAN, *Z. Naturforsch.* 14b, 134 [1959]; P. WEBER, *Z. Naturforsch.* 17b, 683 [1962].

⁸ D. v. WYK, *Z. Naturforsch.* 21b, 700 [1966]; 22b, 690 [1967].

⁹ R. SCHMITZ, *Arch. Mikrobiol.* 56, 238 [1967].

Mg²⁺, 40 min 64 500 g; *Rps. viridis*, 10% → 70% Saccharose in Trispuffer, 30 min, 30 100 g). Die pigmentführenden Schichten wurden durch Austropfen der Becher isoliert, 1-mal mit NaCl (1-proz.) und 4–5-mal mit dest. Wasser gewaschen. Das Sediment wurde dann gefriergetrocknet.

Qualitative Bestimmung der Neutralzucker

Etwa 20–40 mg Trockensubstanz wurden in 5 ml 1-n. H₂SO₄ aufgenommen und in der verschlossenen Ampulle 4 Stdn. bei 100 °C hydrolysiert, dann mit CaCO₃ neutralisiert und das ausgefallene CaSO₄ abzentrifugiert. Der Überstand wurde eingengt, erneut neutralisiert und dann zur Trockne gebracht. Für die Chromatographie nahmen wir die Substanz in 70-proz. Äthanol auf.

Zunächst wurde auf Zellulose (MN 300)-Dünnschichtplatten in dem Laufmittel Essigsäureäthylester:Pyridin:H₂O (2:1:2) chromatographiert, später die Substanz punkt- oder strichförmig auf Papierstreifen (Schleicher & Schüll 2043 b, 45 cm lang) aufgetragen und absteigend chromatographiert. Als Laufmittel wurden verwendet:

- a) Pyridin : n-Butanol : Wasser (4 : 6 : 3),
- b) Butanol : Eisessig : Wasser (5 : 1 : 2).

Die Laufzeit betrug 40 Stunden.

Zur Freisetzung der Hexosamine muß länger hydrolysiert werden. Die Substanz erhitzt man in 6-n. HCl 14–16 Stdn. auf 100 °C¹¹. Dabei werden viele Zucker zerstört, was den Nachweis der Aminozucker erleichtert¹¹. Die Lösung wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und dann wieder in wenig Wasser aufgenommen. Zur restlosen Entfernung der HCl wiederholt man den Prozeß. Um die relativ geringen Anteile erfassen zu können, wurden jeweils 1 mg chromatographiert. Die Laufzeit in Pyridin : Butanol : H₂O (4 : 6 : 3) betrug 48 Stunden.

Zur Isolierung und Identifizierung von 2-Keto-3-deoxy-octonsäure (KDO) hydrolysiert man das Ausgangsmaterial (10–15 mg) in 0,1-n. H₂SO₄ 10 min bei 100 °C, worauf neutralisiert und eingengt wird. Dann wurde elektrophoretisch aufgetrennt: Sch & Sch 2043 b, Pyridin: Eisessig: Wasser (10: 4: 86), pH 5,4, 4 Stdn., 1000 V, 80–100 mA¹¹.

Zum Nachweis von KDO verwendet man das Sprühreagenz nach WARREN¹². Außerdem wurde die Reaktion mit dem Thiobarbitursäure-Reagenz durchgeführt¹³. Als weitere Sprühmittel bzw. Reagentien verwendeten wir Anilinphthalat¹⁶, Elson-Morgan-Reagenz

nach PARTRIDGE¹⁴ und Ninhydrin¹¹ für Hexosamine und zur Differenzierung der Hexosamine den Ninhydrinabbau¹⁵. Zum Nachweis von Heptose wurde nach DISCHE et al.¹⁶ verfahren.

Quantitative Zuckerbestimmung

Das Hydrolysat wird strichförmig aufgetragen und absteigend entwickelt. Nach dem Trocknen der Chromatogramme wurden seitlich je ein Streifen abgeschnitten und mit Anilinphthalat besprüht, um die Lage der Banden zu ermitteln. Dann wurden die Streifen mit den Zuckern ausgeschnitten und nach JANN¹¹ eluiert. Die quantitative kolorimetrische Bestimmung geschah nach WALBORG¹⁷. Für jeden Zucker wurde eine eigene Eichkurve aufgestellt.

Andere Methoden

Die Eiweißbestimmung wurde nach der Methode von LOWRY et al.¹⁸ durchgeführt. Hydrolyse: 10 ml Probe mit 0,5 ml 0,3-n. NaOH versetzt und 90 min bei 60 °C gehalten. Der Gesamtstickstoff wurde nach der Halbmikro-Kjeldahl-Methode bestimmt. Zur Trennung von Proteinen und Lipiden wurde mit Phenol-Wasser ausgeschüttelt¹⁹.

Ergebnisse und Diskussion

Hydrolysate von Thylakoiden enthalten die in Tab. 1 angegebenen Zucker. Die Identifizierung der Zucker wurde an Hand der R_f-Werte, sowie durch Ko-Chromatographie mit authentischen Substanzen in verschiedenen Laufmitteln vorgenommen. Die gleichen Zucker, die in den Thylakoiden vorkommen, konnten auch in der Membranfraktion thylakoidfreier, aerober Dunkelkulturen von *R. rubrum* nachgewiesen werden, außer Ribose, das in den Thylakoiden nicht vorkommt. Diese Rohfraktion besteht im wesentlichen aus cytoplasmatischer Membran, Zellwandbruchstücken und einem Teil der Ribosomen. Eine vollständige Reinigung der cytoplasmatischen Membran von der Zellwand ist bis jetzt nicht gelungen. Stark angereicherte cytoplasmatische Membranen erhielten wir durch osmotischen Schock und Ultraschallbehandlung von Lysozym-Sphäroplasten und anschließende Dichtegradient-

¹⁰ G. DREWS, Zbl. Bakteriell. I. Abt., Suppl. Heft 1, 170 [1965].

¹¹ H. J. RISSE, W. DRÜGE, E. RUSCHMANN, O. LÜDERITZ u. O. WESTPHAL, Europ. J. Biochem. 1, 216 [1967]; B. JANN, Vergleichende Immunchem. Untersuchungen an spezif. Polysacchariden von *E. coli*, Diss., Freiburg 1965.

¹² L. WARREN, Nature [London] 186, 237 [1960].

¹³ E. C. HEATH and U. A. GHALAMBOR, Biochem. biophysic. Res. Commun. 10, 340 [1963]; U. S. WARAVDEKAR and L. D. SASLAW, J. biol. Chemistry 234, 1945 [1959]; A. WEISSBACH u. J. HURWITZ, 234, 705 [1959].

¹⁴ S. M. PARTRIDGE, Nature [London] 164, 443 [1949].

¹⁵ P. J. STOFFYN u. R. W. JEANLOZ, Arch. biochem. Biophysics 52, 373 [1954].

¹⁶ Z. DISCHE, L. B. SHETTLES u. M. ONOS, Arch. biochem. Biophysics 22, 169 [1949].

¹⁷ F. WALBORG, Analyt. Biochem. 13, 186 [1965].

¹⁸ O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR u. R. J. RANDALL, J. biol. Chemistry 193, 265 [1961].

¹⁹ O. WESTPHAL, O. LÜDERITZ u. F. BISTER, Z. Naturforschg. 7b, 148 [1952].

	Glucose	Rhamnose	Mannose	Galaktose	Fucose	Ribose
<i>R. rubrum</i> Thylakoide Lichtkultur	+	+			+	
Membranfraktion * Dunkelkultur	+	+			+	+
<i>Rps. viridis</i> Lichtkulturen Thylakoidfraktion	+	+	+	+		
<i>Rps. viridis</i> Chloroform-Methanol-Ex- trakt der Thylakoide	+	+	+	+		
<i>Rps. viridis</i> Thylakoide nach MeOH- Chloroform Extraktion	+	+	+	+		

Tab. 1. Quantitative Analyse der Zuckerbausteine in den Membranfraktionen von *R. rubrum* und *Rps. viridis*. * Sed. 120 000 g, Chromatographie absteigend, Pyridin/BuOH/H₂O und Eisessig/BuOH/H₂O.

Zentrifugation. Die Fraktionen zeigten die gleiche Zuckerzusammensetzung wie Thylakoide. Ribose fehlte also.

Wenn man die Trockensubstanz der Thylakoide mit Methanol-Aceton und Alkohol-Äther (siedend) oder mit Methanol-Aceton und Methanol-Chloroform (siedend) extrahiert, so gehen 32% der Trockensubstanz in Lösung. Sowohl im Rückstand als auch im organischen Extrakt sind die Zucker nachzuweisen (Tab. 1).

Wie Tab. 2 zeigt, ist bei *R. rubrum* sowohl der Gesamtzuckergehalt in den Thylakoiden als auch der prozentuale Anteil an Glucose sehr hoch. Einen noch höheren Kohlenhydratgehalt fand kürzlich SCHMITZ

Analyse Nr.	1		2		3	
	Extrakt [μg/ml]	[%]	Extrakt [μg/ml]	[%]	Extrakt [μg/ml]	[%]
a) Glucose	1350	91	1560	91,5	720	88,5
b) Fucose	68	4,2	62	3,6	52	6,4
c) Rhamnose	72	4,8	86	5,0	41	5,1
Summe	1490	100	1708	100,1	813	100
Gesamtzucker in μg/mg Trocken- substanz	141	14,1	—	—	130	13,0

Tab. 2. Quantitative Bestimmung der Zucker in den Thylakoiden von *Rhodospirillum rubrum*.

²⁰ R. SCHMITZ, Arch. Mikrobiol. 56, 225 [1967].

in den Thylakoiden von *Oscillatoria chalybea* (20,6%)²⁰ und *Chlorobium thiosulfatophilum* (38%)⁹. Eine Verunreinigung der Thylakoidfraktionen durch den Rohrzuckergradient erscheint unwahrscheinlich. Trotzdem wurden Thylakoide durch fraktionierte Zentrifugation ohne Zuckergradient isoliert und der Zuckergehalt bestimmt. Er betrug 20 Prozent.

Da die Membranfraktion auch bei noch längerem Waschen keine Zucker mehr abgab, bleiben nur zwei Möglichkeiten. Entweder sind die Thylakoid-Bläschen bei *R. rubrum* mit einer kohlenhydrathaltigen Substanz gefüllt oder die Membran besitzt einen hohen Kohlenhydratanteil. Ein äußerliches Anhaften von Speicherstoffen an den Membranen halten wir nach elektronenmikroskopischer Kontrolle von Totalpräparaten und eingebetteten und geschnittenen Membranfraktionen für ausgeschlossen.

Analyse Nr.	1		2		3	
	Hydro- lysat [μg/ml]	[%]	[μg/ml]	[%]	[μg/ml]	[%]
Glucose	116	49	92	49	80	52
Galaktose	36	15	36	19	28	18
Rhamnose	40	17	24	13	23	15
Mannose	44	19	36	19	24	15
Gesamtzucker (bestimmt als Glucose) in μg/mg Trocken- substanz	37	3,7	30	3,0	32	3,2

Tab. 3. Quantitative Bestimmung der Zucker in den Thylakoiden von *Rhodospseudomonas viridis*.

Der Gehalt an reduzierenden Zuckern ist in den Thylakoiden von *Rps. viridis* wesentlich geringer als bei *R. rubrum* (Tab. 3). 4% Gesamtzucker werden auch für *Rps. spheroides*-Chromatophoren⁶ und das Chloroplasten-Strukturprotein von *Allium porrum* und *Antirrhinum majus*-Chloroplasten angegeben⁸. Auch bei *Rps. viridis* ist Glucose der am stärksten vertretene Zucker (Tab. 3). Sein prozentualer Anteil am Gesamtzuckergehalt sinkt aber von 90% (*R. rubrum*) auf etwa 50% (Tabn. 2, 3). Dieses Ergebnis spricht auch dafür, daß ein Teil der in den Thylakoiden von *R. rubrum* nachgewiesenen Kohlenhydrate nicht am Aufbau der Membran beteiligt ist, sondern als Speicherstoff fungiert.

Der mit organischen Lösungsmitteln (Methanol-Aceton-Chloroform) extrahierbare Anteil an den

Stamm	<i>R. rubrum</i>	<i>Rps. viridis</i>	<i>R. rubrum</i>	<i>Rps. viridis</i>
Versuchs-Nr.	1	2	3	4
Einwaage [mg]	200	300	300	300
Anteil in mg bezogen auf Einwaage				
A <i>Phenolphase</i>				
1. durch Methanol fällbar				
a) einschließlich Präzipitat in der Zwischenphase	108,3	160,2		
b) ohne Zwischenschicht			83 (27%)	67 (22%)
2. nicht fällbarer Rest	27,0	107,0		
3. nach Abtrennung der Proteinfraction im Dialysat ausgefallen			100 (33%)	80 (27%)
B <i>wäßrige Phase</i>				
1. durch Äthanol in der ausdialysierten und eingengten Phase fällbar	20,0	10,0	25 (8,3%)	11 (3,7%)
2. nicht fällbarer Rest	44,7	22,8		
C <i>in keiner Phase löslicher Rückstand</i>			41 (14%)	96 (32%)
<i>Gesamtzucker (als Glucose) in µg pro mg Trockensubstanz einer Fraktion</i>				
in Fraktionen:	A, 1, a	18,0		
	A, 1, b		46,0	26,0
	A, 2		0,0	16,0
	B, 1		540	164
	C		22	17
<i>Protein in µg pro mg Trockensubstanz</i>				
Thylakoide, unbehandelt			465	565
Fraktion A, 1 b			970	500
<i>Gesamtstickstoff (Kjeldahl) in µg pro mg Trockensubstanz</i>				
Thylakoide, unbehandelt	73	84		
Thylakoide nach Extraktion mit Methanol-Chloroform	112	108		
Phenolphase (Fraktion A)	89	97		
<i>Gesamt-Phosphor in µg pro mg Trockensubstanz</i>				
Thylakoide, unbehandelt	8,3	5,2		

Tab. 4. Analyse der Thylakoidfraktionen von *R. rubrum* und *Rps. viridis* nach Phenol-Wasser-Behandlung.

Thylakoiden beträgt bei *R. rubrum* und *Rps. viridis* 30 Gew.-Prozent. Die Hauptmenge an Zucker bleibt bei dieser Extraktion im Rückstand. Die Verteilung ändert sich jedoch nach Phenol-Wasserextraktion. Diese Methode ist mit Erfolg zur Extraktion und Trennung von Lipopolysacchariden und Proteinen in der Zellwand gramnegativer Bakterien eingesetzt worden¹⁹. Die Lipopolysaccharide gehen dabei in die wäßrige Phase, die Proteine in die Phenolphase.

Bei der Phenol-Wasserbehandlung wird der Hauptanteil der Membranfraktion in die Phenolphase überführt (Tab. 4). Bei kurzer Behandlung (Tab. 4, Versuche 1 und 2) bleibt eine starke Zwischenphase erhalten. Die mit Methanol in der Phenolphase fällbare Fraktion besteht aus Protein, enthält aber immer einen deutlich nachweisbaren Kohlenhydratanteil (Tab. 4). Die mit Äthanol in der wäßrigen Phase fällbare Fraktion enthält einen hohen Prozentsatz an Zuckern. Bei *R. rubrum* ist der Anteil – entsprechend dem hohen Gesamtzuckergehalt – höher als bei *Rps. viridis*.

Außer den nachgewiesenen Zuckern (Tabn. 2 und 3) enthalten die Membranen noch andere Zucker, die aber nur in sehr geringer Menge vorkommen. Bei *R. rubrum* traten 8, bei *Rps. viridis* 6 Anilinphtalat-positive Banden in den Chromatogrammen auf. Die Thylakoide beider Organismen enthalten auch einen Aminozucker (Elsen-Morgan positiv), der im Laufgemisch A in der Nähe von Galaktosamin lief. Beim Ninhydrinabbau¹⁷ und Rechromatographie entstand ein sich rötlich anfärbender Fleck, der bisher nicht identifiziert werden konnte.

Eindeutig konnte dagegen nach milder Hydrolyse und Elektrophorese des Hydrolysates eine α -Ketosäure nachgewiesen werden, die wahrscheinlich mit 2-Keto-3-Desoxy-8-Phosphooctonsäure (KDO) identisch ist¹⁵. Nach Besprühen mit dem Thiobarbitursäure-Reagenz nach WARARDEKAR und SASLAW¹⁵ trat ein rosa Fleck auf, der bei nachträglichem Besprühen mit NaOH gelöscht wurde. Der Nachweis nach HEATH¹⁵ ergab eine Absorptionskurve die der von authentischem KDO weitgehend entsprach, aber nicht

mit ihr identisch war. Da der Nachweis bei den Thylakoidpräparaten aus beiden Bakterien sehr deutlich ausfiel, obwohl elektronenoptisch keine Verunreinigungen mit Zellwänden nachzuweisen war, erscheint es sicher, daß diese Substanz in den Thylakoiden vorkommt. Neuraminsäure ließ sich dagegen nicht nachweisen. Ebenso fehlt Heptose.

Wie die vorliegenden Ergebnisse zeigen, enthalten auch bakterielle Thylakoide neben Proteinen und Phospholipiden Kohlenhydrate als Strukturkomponente. Weder die Extraktion mit Methanol-Chloroform noch die Behandlung mit wäßrigem Phenol ergaben eine quantitative Abtrennung der kohlenhydrathaltigen Fraktion. Weitere Untersuchungen

müssen zeigen, ob die Kohlenhydrate, neben einer Beteiligung an den Phospholipiden als Bestandteile von Lipopolysacchariden oder von Glycoproteinen zu gelten haben. In den zahlreichen, bisher publizierten Strukturmodellen zum molekularen Aufbau der Thylakoide sind neben den Proteinen nur die Sulfo-, Galacto- und Phospholipide berücksichtigt worden. Offensichtlich ist aber die Zahl der an Membranstruktur beteiligten Zucker wesentlich größer als bisher angenommen worden ist.

Die Untersuchungen wurden durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt. Fräulein I. LEUTIGER danke ich für ihre gewissenhafte Mitarbeit.

²¹ O. LÜDERITZ, A. M. STAUB u. O. WESTPHAL, *Bacteriol. Rev.* **30**, 193 [1966].

²² G. DREWS u. P. GIESBRECHT, *Arch. Mikrobiol.* **53**, 255 [1966]; **55**, 91 [1966].

Über die strukturabhängige hämolytische Aktivität einiger Cholin-Phosphatide

D. ARNOLD und H. U. WELTZIEN

Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg

(Z. Naturforsch. **23 b**, 675—683 [1968]; eingegangen am 15. September 1967)

Eine Anzahl synthetischer Cholinphosphatide wurde hinsichtlich ihrer hämolytischen Wirksamkeit untersucht. Die Lyse der Erythrocyten wurde dabei sowohl in ihrem zeitlichen Verlauf verfolgt, wie auch durch Endpunktsbestimmung bei verschiedenen Konzentrationen quantitativ erfaßt.

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Grenzflächenaktivität und der hämolytischen Wirksamkeit der Substanzen besteht nicht. Innerhalb homologer Verbindungsreihen wird dagegen durch die Kettenlänge des apolaren Teils im Molekül eine scharfe Grenze zwischen lytischen und nicht-lytischen Verbindungen gezogen. So zeigt beispielsweise das sehr stark grenzflächenaktive Dipelargonoyl- α -lecithin gegenüber Humanerythrocyten keinerlei hämolytische Wirksamkeit, während Dicaprinoyl- α -lecithin bei gleicher Grenzflächenaktivität eine deutliche Hämolyse verursacht.

Bei einigen der untersuchten Phosphatide wurde überdies ein diskontinuierlicher, zweistufiger Verlauf der Zellzerstörung beobachtet.

Eine der bekannten Eigenschaften von Lysophosphatiden ist deren Fähigkeit, Erythrocytenmembranen zu zerstören. KLIBANSKY und DE VRIES¹ haben die Bindung von Lysolecithin an Erythrocyten in Plasmasuspensionen quantitativ untersucht und die zur Sphärocytose bzw. zur Lyse erforderlichen Konzentrationen bestimmt. GOTTFRIED und RAPPORT² untersuchten die lytische Aktivität verschiedener Plasmalogen-Derivate im Vergleich mit Lysolecithin und versuchten danach eine Klassifizierung der von ihnen untersuchten Substanzen vorzunehmen. Aus den Untersuchungen von MUNDER, FERBER und FISCHER³ kennen wir Zusammenhänge zwischen der hämolytischen Wirksamkeit von Lysolecithin und der Aktivität von Membranenzymen.

Der eigentliche Mechanismus der Cytolyse durch Lysolecithin ist jedoch noch unbekannt. Es scheint uns daher wichtig, über einige in diesem Zusammenhang prinzipielle Fragen mehr experimentelle Daten zu erhalten; so etwa über die Funktion des apolaren und des polaren Anteils eines Lysophosphatides bei der Lyse, über den Einfluß bestimmter Strukturen auf die hämolytische Aktivität, über die Fixierung der Substanzen an der Membran, die Bedeutung

der Substanzen an der Membran, die Bedeutung

¹ CH. KLIBANSKY u. A. DE VRIES, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **70**, 176 [1963].

² E. L. GOTTFRIED u. M. M. RAPPORT, *J. Lipid Res.* **4**, 57 [1963].

³ P. G. MUNDER, E. FERBER u. H. FISCHER, *Z. Naturforsch.* **20 b**, 1048 [1965].