

Die Atmungskette*

Von Prof. Dr. F. LEUTHARDT

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Zürich

Das Problem der biologischen Oxydation hat die Chemiker und Physiologen beschäftigt, seitdem LAVOISIER am Ende des 18. Jahrhunderts gefunden hatte, daß in den Organismen Verbrennungsvorgänge stattfinden, durch welche Sauerstoff verbraucht und Kohlensäure freigesetzt wird. Es sind im Laufe der Zeit eine Reihe von Atmungstheorien aufgestellt worden. SCHÖNBEIN in Basel, der sich eingehend mit dem Problem der biologischen Oxydation befaßt hat und auf ihre Ähnlichkeit mit den durch Ozon bewirkten Oxydationen aufmerksam wurde, nahm an, daß sich im Organismus eine ozonähnliche Modifikation des Sauerstoffs bildet. Spätere Theorien von TRAUBE, ENGLER und BACH, BACH und CHODAT u. a. postulierten die Bildung von Peroxyden als Zwischenprodukte. Alle diese Theorien haben aber heute nur noch historisches Interesse. Ein tieferer Einblick in die Vorgänge, die sich in den Organismen tatsächlich abspielen, wurde erst durch die Entdeckung der verschiedenen Oxydationsfermente und Cofermente ermöglicht¹.

Eine Tatsache, die schon den älteren Physiologen aufgefallen war, liegt darin, daß die Atmung eng mit der Zellstruktur verknüpft ist. Seitdem es BUCHNER zu Beginn dieses Jahrhunderts zum erstenmal gelungen war, gärfähige, zellfreie Preßsäfte aus Hefe herzustellen, konnten zahlreiche Fermente aus den Geweben extrahiert und in lösliche Form gebracht werden. Es hat sich aber gezeigt, daß die Atmungsfermente irgendwie in der Zellstruktur verankert sein müssen. BATELLI und STERN haben auf die Tatsache hingewiesen, daß sich verschiedene Oxydationsfermente, welche sie als «Oxydone» bezeichneten, nicht von der Zellstruktur ablösen lassen, sondern mit dem zentrifugierbaren Teil des Gewebes verbunden bleiben. WARBURG hat dann im Anschluß an diese Versuche den Nachweis erbracht, daß ein beträchtlicher Teil der Zellatmung an Körnchen (Granula) gebunden ist, die sich aus den Organen isolieren lassen².

* 2. Vortrag im Rahmen der Tagung des Schweizerischen Chemiker-Verbandes vom 23. Juni 1956 über biologische Oxydation. Auf die Chemie der im folgenden genannten Cofermente hat Professor VISCONTINI im 1. Vortrag hingewiesen¹.

¹ M. VISCONTINI, *Chimia* 10 (1956) 247.

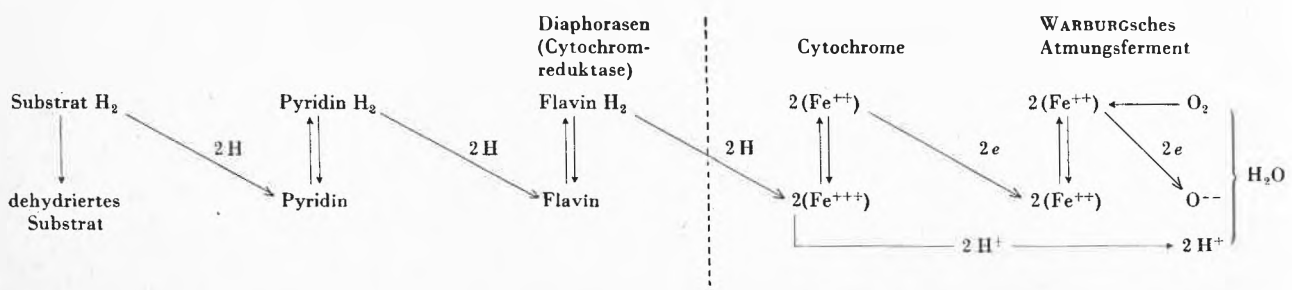
² O. WARBURG, *Pflügers Arch.* 154 (1913) 599.

Wir wissen heute, daß die Oxydationsfermente im wesentlichen an den sogenannten *Mitochondrien* lokalisiert sind. Als solche bezeichnet man mikroskopische körnchen- oder auch fadenartige Gebilde, die sich in allen Zellen finden und durch bestimmte Färbemethoden dargestellt werden können. Sie lassen sich aus verschiedenen Organen nach Zerstörung der Zellstruktur vom übrigen Zellinhalt durch fraktionierte Zentrifugation abtrennen. Auf diese Weise ist es möglich, ihre Stoffwechsellaktivität getrennt zu untersuchen.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Mitochondrien hat ergeben, daß es sich um sehr kompliziert gebaute Zellorganellen handelt. Sie stellen Hohlkörper dar, in deren Innerem zahlreiche Leisten und Falten vorspringen, und man vermutet, daß die Atmungsfermente in die Wand dieser Gebilde eingebaut sind. Die Mitochondrien stellen also den Schauplatz der Vorgänge dar, die wir nun im folgenden etwas genauer besprechen wollen.

In welcher Weise die verschiedenen Cofermente miteinander reagieren, hat VISCONTINI bereits angedeutet¹. Er hat auch darauf hingewiesen, daß erst durch Verbindung der Cofermente mit den spezifischen Fermentproteinen die aktiven Enzyme entstehen. Wenn im folgenden von den Reaktionen der Coenzyme die Rede ist, so wird als selbstverständlich vorausgesetzt, daß dieselben mit ihren Proteinen verbunden sind.

Wenn man annimmt, daß in der intakten Zelle die oben besprochenen Enzyme in gleicher Weise miteinander reagieren wie *in vitro*, so gelangt man zu folgender Reaktionskette: Der Wasserstoff des Substrats wird auf ein Pyridinnukleotid übertragen; dasselbe gibt ihn an ein Flavin weiter; das reduzierte Flavin wird durch das Cytochrom wieder oxydiert, wobei das Elektron des Wasserstoffs vom Eisen aufgenommen wird und der Wasserstoff in ein Wasserstoffion übergeht; das reduzierte Cytochrom wird durch das WARBURGSche Atmungsferment (Cytochromoxydase) und dieses schließlich durch den Luftsauerstoff oxydiert. Diese Reaktionsfolge, die «klassische» Atmungskette, läßt sich durch das folgende Schema darstellen; die Pfeile deuten in Richtung der Wasserstoff- bzw. Elektronenübertragung. Die Cytochrome sind in eine einzige Stufe zusammengefaßt.



Man kann äußerlich diese Reaktionsfolge in zwei Teilschritten zerlegen (im Schema durch die senkrechte punktierte Linie getrennt): Die erste umfaßt die Stufen, bei welchen Wasserstoffatome von einem Donator auf einen Akzeptor übertragen werden; bei der zweiten besteht der Oxydationsvorgang in einer Elektronenverschiebung zwischen Metallatomen. Ein prinzipieller Unterschied besteht aber nicht. Das Wesen des Oxydo-Reduktionsvorgangs besteht immer in einer Elektronenübertragung. Man kann daher auch sagen, daß in den ersten Reaktionsstufen das Elektron zusammen mit einem Proton, d. h. als Wasserstoffatom, transportiert wird, während die letzten Stufen einen reinen Elektronentransport repräsentieren. Die Untersuchungen D. E. GREENS und seiner Schule (MAHLER^{3,4} haben gezeigt, daß verschiedene gelbe Fermente ihrerseits Metallkomplexe bilden, und es ist daher möglich, daß auch diese flavin-gebundenen Metalle (im Falle der Cytochrome-c-Reduktase Eisen) am Elektronentransport beteiligt sind.

Die obige Reihenfolge der verschiedenen Oxydo-Reduktionen entspricht deren Redoxpotentialen: Pyridincofermente: - 0,28 Volt; Flavincofermente: - 0,08 Volt; Cytochrome: - 0,04 bis + 0,29 Volt.

Die Untersuchungen der jüngsten Zeit haben ergeben, daß die obige Darstellung der Atmungskette in mancher Hinsicht unvollständig ist. Wir müssen daher im folgenden verschiedene Einzelheiten etwas eingehender diskutieren.

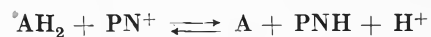
Zunächst ist zu erwähnen, daß die Oxydation des hydrierten Pyridincoferments durch gelbe Fermente wahrscheinlich nur einen der möglichen Wege darstellt. MARTIUS hat gezeigt, daß der Wasserstoff vom hydrierten Pyridin auf das *Phyllochinon* übertragen werden kann, welches ein wichtiger Faktor der Atmungskette zu sein scheint. Bevor wir aber weiter auf seine Bedeutung eingehen, müssen wir eine andere Frage besprechen, nämlich die Beziehung der Atmungskette zur *Phosphorylierung*.

Eine der wichtigsten Erkenntnisse liegt darin, daß der Ablauf der Atmungskette aufs engste mit der Synthese organischer Phosphorsäureverbindungen aus anorganischem Phosphat verknüpft ist. Die ersten Beobachtungen über den Zusammenhang von Atmung und Phosphatveresterung gehen auf KALCKAR⁵ und auf BELITZER⁶ zurück. Sie stellten fest, daß pro Atom veratmeten Sauerstoffs 2 bis 3 Moleküle Phosphat gebunden werden können. Wir können hier die weitere Entwicklung nicht in allen ihren Phasen schildern. LEHNINGER erbrachte 1951 schließlich den eindeutigen Beweis, daß die Phosphorylierung im wesentlichen mit der Oxydation der reduzierten Pyridincofermente, d. h. mit der Atmungskette verknüpft ist⁷. Die freie Energie der

Oxydation des Wasserstoffs wird zur Bildung von Phosphatbindungen benutzt, und zwar dient sie, wie wir später zeigen werden, in erster Linie zum Aufbau der Anhydridbindungen der Adenosinpolyphosphate. Man bezeichnet diesen Vorgang als *oxydative Phosphorylierung*, oder, weil er mit der Atmungskette verknüpft ist, als *Atmungskettenphosphorylierung*. Es handelt sich hier um einen der grundlegenden Prozesse des Zellstoffwechsels, durch den der Abfall der chemischen potentiellen Energie, der die Oxydation des Wasserstoffs begleitet, überhaupt erst nutzbar gemacht werden kann.

Die Phosphorylierungsvorgänge stellen aber keinen integrierenden Teil der Atmungskette selbst dar. Dies ergibt sich aus der Tatsache, daß sie ausgeschaltet werden können, ohne daß der Ablauf der Oxydationsvorgänge dadurch verhindert wird; die Phosphorylierung läßt sich also von der Atmung trennen («Entkoppelung» der oxydativen Phosphorylierung). Auch auf dieses wichtige Problem werden wir später kurz zurückkommen.

Die meisten organischen Substrate der Zelle geben bei der Dehydrierung ihren Wasserstoff zuerst an die Pyridinnukleotide DPN oder TPN ab. Es sind heute eine große Zahl derartiger Dehydrasen bekannt; viele sind als reine Proteine dargestellt worden. Es handelt sich meist um lösliche Enzyme, die leicht aus den Geweben extrahiert werden können. In der Regel sind die Dehydrierungen durch die Pyridincofermente reversibel. Die Gleichgewichtsreaktion verläuft nach dem folgenden allgemeinen Schema



(AH_2 = Substrat, A = dehydriertes Substrat, PN^+ = eine der beiden Codehydrasen). Dies bedeutet, daß die primäre Dehydrierung der Substrate meistens nicht von einem großen Abfall der freien Energie begleitet ist.

Die Dehydrierung der verschiedenartigsten Substrate führt primär zum gleichen Produkt: einem hydrierten Pyridincoferment. Dieses ist als das eigentliche Anfangsglied der Atmungskette zu betrachten. Der Wasserstoff aller Substrate, welche mit einem der Pyridinnukleotide reagieren, wird somit durch ein einziges, allerdings sehr komplexes Fermentsystem zu Wasser oxydiert.

Dieses Fermentsystem ist, im Gegensatz zu den meisten Dehydrasen, fest mit gewissen Zellstrukturen verbunden. Die neuere Forschung zeigt immer deutlicher, daß die Enzyme der Atmungskette und der oxydativen Phosphorylierung nicht nur eine funktionelle, sondern auch eine morphologische Einheit bilden. Man kann aus Muskel oder Niere kolloidale Fermentlösungen herstellen, in welchen das komplette respiratorische System an ultramikroskopischen Teilchen gebunden ist (D. E. GREEN⁸). Die Enzyme sind hier zu hochmolekularen Komplexen zusammengeschlossen, in welchen wahr-

⁸ D. E. GREEN, *Biol. Rev.* 26 (1951) 410; D. E. GREEN, *Conférences et Rapports de la 3^e Congrès international de Biochimie, Bruxelles 1955, Liège 1956*, S. 281.

³ H. R. MAHLER, *Advances in Enzymol.* 17 (1956) 233.

⁴ H. R. MAHLER und D. E. GREEN, *Science* 120 (1954) 7.

⁵ H. KALCKAR, *Enzymologia* 2 (1937) 47; *Biochem. J.* 33 (1939) 631.

⁶ V. A. BELITZER, *Enzymologia* 6 (1939) 1. V. A. BELITZER und E. T. TSIBAKOWA, *Biokhimiya* 4 (1939) 516.

⁷ A. L. LEHNINGER, *J. Biol. Chem.* 190 (1951) 345, Zusammenfassg. vgl. *Harvey Lectures 1953/54, Series XLIX, New York 1955*, S. 176.

scheinlich die einzelnen Komponenten in bestimmter räumlicher Beziehung zueinander stehen. Das komplexe Fermentensystem ist also nicht einfach ein Gemisch der beteiligten Fermente, sondern ein Gebilde mit bestimmter Architektur, über dessen Aufbau im einzelnen man sich allerdings noch kein Bild machen kann.

Diese Fermentkomplexe sind ihrerseits in die Mitochondrien (in den Muskeln meist als «Sarkosomen» bezeichnet) eingebaut, welche noch andere Enzymsysteme der Zelle, nämlich die Fermente der Fettsäureoxydation und des Zitronensäurezyklus, einschließen. Der Zitronensäurezyklus stellt die Endstufe der Oxydation fast aller wichtiger Betriebsstoffe (Kohlehydrate, Fettsäuren) dar.

Eine wichtige Ausnahme von der Regel, wonach die Substratdehydrierung durch ein Pyridincoferment erfolgt, bildet die Oxydation der Bernsteinsäure zu Fumarsäure durch die Succinodehydrase (Bernsteinsäuredehydrase). Dieses Enzym ist schon früh (z. B. von BATELLI und STERN 1912) im Zusammenhang mit der Respiration der Gewebe studiert worden. Im Gegensatz zu den meisten anderen Dehydrasen läßt sich die Succinodehydrase nicht von der Zellstruktur abtrennen. Alle bisher aus den Geweben hergestellten Enzymlösungen enthalten die Succinodehydrase in Form von hochmolekularen Komplexen, welche noch Cytochrom *b* oder, je nach der Darstellungsart, auch die andern Cytochrome und die Cytochromoxydase einschließen (KEILIN und HARTREE⁹, SLATER¹⁰). Solche Präparate vermögen den Wasserstoff des Succinats auf Farbstoffe wie Methylblau und andere Akzeptoren zu übertragen, oder sie bewirken, wenn sie die Cytochromoxydase enthalten, die Oxydation des Succinats durch den Luftsauerstoff. Das Enzym, das unmittelbar mit dem Substrat reagiert, die eigentliche Dehydrase, ist in diesem Komplex als Komponente enthalten. Es ist neuerdings gelungen, dieselbe als flavinhaltiges, lösliches Protein abzutrennen (SINGER und KERNEY¹¹). Die kolloidalen Teilchen, welche das Succinoxidasesystem enthalten, stellen wahrscheinlich Bruchstücke der oben erwähnten, die Gesamtheit der respiratorischen Enzyme einschließenden Komplexe dar. In der Tat vermögen die letzteren neben den reduzierten Pyridincofermenten stets auch das Succinat zu oxydieren.

Bis vor kurzem war außer der Bernsteinsäure kein Substrat bekannt, welches durch Vermittlung des Cytochroms *b* oxydiert wird.

Neuere Untersuchungen haben aber ergeben, daß dem Cytochrom *b* wahrscheinlich allgemeinere Funktionen zukommen als die Oxydation des Succinats. Cytochrom *b* wird nämlich durch ein Coferment reduziert, dessen Beteiligung an der Atmungskette bisher unbekannt war, das oben bereits erwähnte *Phyllochinon*, das seinerseits den Wasserstoff von der reduzierten Cozymase über-

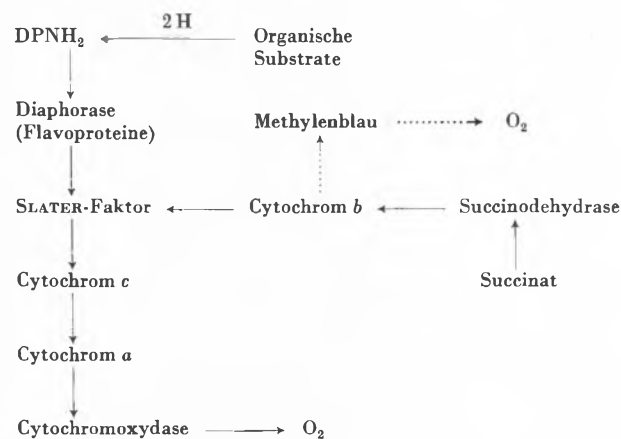
nimmt (MARTIUS). Wir werden weiter unten auf diese Frage zurückkommen.

Nach Untersuchungen SLATERS^{10, 12} scheint in den oben genannten Fermentpräparaten ein weiterer Faktor vorhanden zu sein, welcher an der Reduktion des Cytochroms *c* durch die Diaphorase sowie auch an der Oxydation des Succinats beteiligt ist.

Der neue Faktor wird durch reduzierende Stoffe, wie Ascorbinsäure, reduziertes Glutathion, 2,3-Dimercaptopropanol, bei Gegenwart von Sauerstoff zerstört, während die übrigen Komponenten des Systems unter diesen Bedingungen nicht verändert werden. Es zeigte sich, daß durch die genannten Stoffe sowohl die Oxydation der reduzierten Cozymase als auch des Succinats gehemmt wird. Man muß also annehmen, daß der Faktor gleichzeitig in die Atmungskette und den Succinoxidasekomplex eingeschaltet ist.

Man kann mit dem Spektroskop direkt feststellen, daß bei Zusatz von Dihydrocozymase zu Herzmuskelpräparaten die Bande des reduzierten Cytochroms *a* und *c* erscheinen, während Zusatz von Succinat gleichzeitig auch die Bande des Cytochroms *b* hervorruft. Das letztere scheint also spezifisch mit der Oxydation der Bernsteinsäure verknüpft zu sein.

Man ist auf Grund der gegenwärtigen Kenntnisse zum folgenden Schema der Atmungskette gelangt (SLATER¹⁰). Die Pfeile zeigen in Richtung des Elektronentransportes:



Durch die gestrichelten Pfeile ist im obigen Schema die nichtphysiologische Oxydation des Succinats durch Vermittlung des Methylblaus angedeutet.

Wie erwähnt, ist die obige Darstellung der Atmungskette noch nicht vollständig. Wir haben bereits mehrfach auf die Arbeiten von MARTIUS hingewiesen, welche zeigen, daß noch weitere Wasserstoffakzeptoren eingeschaltet sind, und zwar handelt es sich um fettlösliche Vitamine, die Redoxsysteme bilden: das Phyllochinon (Vitamin K) und das α -Tocopherol (Vitamin E). Das erste ist ein Naphtochinon-, das zweite ein Chromonderivat. Die Konstitution (unter Weglassung der Seitenkette) ist die folgende

⁹ D. KEILIN und E. F. HARTREE, *Biochem. J.* 41 (1947) 503.

¹⁰ C. SLATER, *Biochem. J.* 45 (1949) 1, 8, 14, 46 (1950) 484.

¹¹ T. P. SINGER und E. B. KERNEY, *Biochim. Biophys. Acta* 15 (1954) 151.

¹² D. KEILIN und E. C. SLATER, *Brit. Med. Bull.* 9 (1953) 89.

quotient P/O). Dieser Quotient kann den maximalen Wert 3 annehmen, d. h. beim Durchlaufen der Atmungskette (pro zwei Atome oxydierten Wasserstoff) können drei Moleküle Phosphat in organische Bindung übergeführt werden.

Bei der Oxydation des Wasserstoffs durch die Atmungskette fällt, wie sich aus der Hintereinanderschaltung verschiedener Redoxsysteme ergibt, die freie Energie stufenweise ab; die Annahme liegt nahe, daß jede Stufe (Pyridin-Flavin, Flavin-Cytochrom c , Cytochrom c -Sauerstoff) mit einer Phosphorylierung verknüpft ist. Ob diese Annahme aber zutrifft und wie die Aufnahme der drei Moleküle Phosphat tatsächlich auf die einzelnen Oxydationsstufen verteilt ist, kann nur durch das Experiment entschieden werden.

Es ist möglich gewesen, bei Verwendung geeigneter Fermentpräparate und Versuchsbedingungen einzelne Teilreaktionen getrennt zu untersuchen (LEHNINGER^{7, 17, 18}, LARDY¹⁹, SLATER²⁰ u. a.). So hat sich gezeigt, daß bei der Oxydation von reduziertem Cytochrom c pro Atom Sauerstoff ein Molekül Phosphat gebunden wird. (Das Cytochrom wird bei diesen Versuchen auf nicht enzymatischem Weg durch Ascorbinsäure reduziert.) Andererseits werden bei der Oxydation von β -Oxybuttersäure durch die Ferriform des Cytochroms c zwei Moleküle Phosphat aufgenommen. Im großen und ganzen dürfte also die Hypothese einer mit den einzelnen Oxydationsstufen gekoppelten Phosphorylierung richtig sein.

Außer den oben angeführten Stufen der Atmungskette ist nach neueren Arbeiten von MARTIUS noch eine weitere Reaktion wesentlich an der oxydativen Phosphorylierung beteiligt, nämlich die schon mehrfach erwähnte über das Phyllochinon führende Oxydation des Diphosphopyridinnucleotids. Das Phyllochinon bildet einen Bestandteil des Fermentkomplexes der Atmungskette. Der Wasserstoff des DPNH wird, wie das oben mitgeteilte Schema zeigt, auf das Phyllochinon übertragen, dessen reduzierte Stufe durch das Cytochrom b wieder oxydiert wird. Die Hinweise dafür, daß diese Reaktion mit einer Phosphorylierung verbunden ist, ergeben sich aus folgenden Beobachtungen: In den Lebermitochondrien K-avitaminotischer junger Hühner ist die Phosphataufnahme (gemessen am P/O -Quotienten) herabgesetzt; sie kann durch Zusatz von Vitamin K *in vitro* wieder gesteigert werden. Ferner wird die Phosphorylierung durch solche Stoffe herabgesetzt, welche die Vitamin-K-Wirkung hemmen. Dazu gehören gewisse Antikoagulantien vom Typus des Dicumarins. MARTIUS kommt zur Auffassung, daß eines der drei pro Mol oxydierten Wasserstoffs aufgenommenen Phosphatmoleküle auf der Reaktionsstufe des Phyllochinons aufgenommen wird. Die Erhöhung des P/O -Quotienten bei Zusatz von Vitamin K zu Lebermitochondrien von Mangeltieren entspricht größtenteils dieser Annahme.

¹⁸ S. O. NIELSEN und A. L. LEHNINGER, *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 3860.

¹⁹ S. H. COPENHAVEN und H. A. LARDY, *J. Biol. Chem.* 195 (1952) 225.

²⁰ C. SLATER, *Nature* 166 (1950) 982.

Wie das Schema zeigt, werden durch das Phyllochinon die Flavinfermente der Atmungskette überbrückt. Es bestehen demnach zwischen den Pyridincofermenten und den Cytochromen zwei parallele Wege des Wasserstofftransportes. MARTIUS nimmt nun weiter an, daß nur der über Phyllochinon führende Weg mit einer Phosphorylierung gekoppelt ist, nicht aber der «klassische» Weg, der über die Flavine zum Cytochrom c führt. Die Reduktion des Phyllochinons durch DPNH wird nämlich durch solche Stoffe gehemmt, welche Atmung und Phosphorylierung «entkoppeln», d. h. die Phosphorylierung unterbinden, trotzdem die Oxydation des Wasserstoffs weitergeht. Man kann daher annehmen, daß diese Stoffe, indem sie die Reduktion des Phyllochinons blockieren, den Wasserstoff auf die Flavine ableiten.

Wir haben bei Besprechung der Atmungskette erwähnt, daß möglicherweise ein weiteres fettlösliches Vitamin, das Tocopherol (Vitamin E), am Wasserstofftransport beteiligt ist. Nach MARTIUS läßt sich in Lebermitochondrien und Zwerchfell von E-avitaminotischen Tieren eine Erniedrigung des P/O -Quotienten feststellen, was auf eine Beteiligung auch dieses Faktors an der oxydativen Phosphorylierung hindeutet.

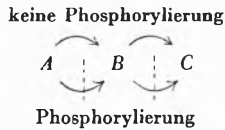
Im Zusammenhang mit der Frage des Mechanismus der Phosphataufnahme müssen wir hier auf die sogenannte «Entkoppelung» der oxydativen Phosphorylierung zu sprechen kommen. Wie wir aber bereits bei verschiedenen Gelegenheiten erwähnt haben, können Oxydation und Phosphorylierung durch gewisse Stoffe «entkoppelt» werden. In ihrer Gegenwart geht die Oxydation des Wasserstoffs weiter, aber es wird kein Phosphat mehr in organische Bindung übergeführt. Diese Hemmstoffe blockieren also nicht die Oxydation selbst, sondern unterbrechen nur ihre Verbindung mit den phosphorylierenden Prozessen.

Wir kennen eine ganze Reihe von entkoppelten Stoffen von chemisch sehr verschiedenartiger Natur. Zu den wichtigsten gehört das 2,4-Dinitrophenol (DPN). Ähnlich wirken Halogenphenole, Azide, verschiedene Farbstoffe, wie Methylenblau, Brilliantcresylblau, Janusgrün u. a., das Antibiotikum Gramicidin, das Malaria-mittel Atebrin, das Antikoagulans Dicumarin, das wir früher schon genannt haben. Zu erwähnen sind ferner Arsenat und Arsenit sowie gewisse SH-Reagenzien (Jodacetamid, *p*-Chloromercuribenzoat). Wahrscheinlich greifen diese Stoffe an verschiedenen Stellen in die Reaktion ein.

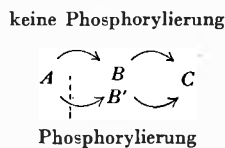
Für die Erklärung der Tatsache, daß die Oxydation des Wasserstoffs auch ohne gleichzeitige Aufnahme von Phosphat vor sich gehen kann, bieten sich im wesentlichen zwei Möglichkeiten dar:

1. Die phosphorylierende und die nichtphosphorylierende Oxydation des Wasserstoffs werden durch die gleichen Wasserstoff- und Elektronenüberträger vermittelt; aber die Oxydo-Reduktion zwischen den aufeinanderfolgenden Stufen kann auf zwei Arten vor sich

gehen. Sie wird im ersten Fall so geleitet, daß eine «energiereiche» Bindung entsteht, welche die Aufnahme von anorganischem Phosphat ermöglicht. Die entkoppelnden Reagenzien interferieren mit der Bildung dieser Bindung oder mit einer anschließenden Transphosphorylierung (die punktierte Linie im Schema bedeutet Entkoppelung):



2. Die phosphorylierende und die nichtphosphorylierende Oxydation werden durch verschiedene Überträger vermittelt. Die Phosphataufnahme könnte in diesem Fall den Charakter einer Substratphosphorylierung haben, d. h. unlösbar mit der Oxydo-Reduktion verknüpft sein. Die Blockierung der letzteren durch irgendwelche Reagenzien müßte als Entkoppelung in Erscheinung treten:



Was die erste Möglichkeit betrifft, so lassen sich zurzeit nur hypothetische Reaktionsmechanismen diskutieren.

LEHNINGER⁷ erwägt z. B. – allerdings ohne eine genauere Formulierung zu geben – die Bindung des DPNH an eine Sulfhydrylgruppe, derart, daß bei der Dehydrierung eine «energiereiche» Bindung entsteht, die phosphorolytisch gespalten würde.

Für die zweite Möglichkeit dagegen bietet die oben erwähnte, experimentell gestützte Anschauung von MARTIUS ein Beispiel, nach welchem die durch Phyllochinon vermittelte, phosphorylierende Oxydation des DPN im Falle der Blockierung dieses Weges durch Flavin überbrückt wird. Es ist allerdings noch völlig unbekannt, welche Faktoren unter normalen Bedingungen den Wasserstoff auf den einen oder anderen Weg

lenken, wie überhaupt noch viele Fragen der Klärung bedürfen. Die mit den einzelnen Stufen der Atmungskette verknüpften Phosphorylierungen verlaufen möglicherweise nach einem verschiedenen Mechanismus, je nach der Natur der beteiligten Enzyme und Coenzyme. Man wird sich auch von der Wirkungsweise der verschiedenen entkoppelnden Reagenzien keine zutreffende Vorstellung machen können, bevor man nicht über den Phosphorylierungsvorgang selbst genauer orientiert ist. Die Wirkung des Arsenats läßt sich in Anlehnung an andere bekannte Reaktionen wahrscheinlich dadurch erklären, daß es an Stelle des Phosphats in die Reaktion einbezogen wird, wobei aber die Arsenatverbindung spontan zerfällt, weil sie viel labiler ist als die Phosphatverbindung.

Die oxydative Phosphorylierung stellt heute noch eines der wichtigsten ungelösten Probleme der Biochemie dar.

Aus dem Vorstehenden ergibt sich eine weitere wichtige Erkenntnis. Wir haben gesehen, daß bei der Oxydation des Substratwasserstoffs der wesentliche Teil der Energie also erst dann verfügbar wird, wenn der Wasserstoff auf den ersten Akzeptor übergegangen ist. Da die Pyridincofermente (Cozymase I und II) bei sehr vielen Dehydrierungen als Wasserstoffakzeptoren funktionieren, genügt ein einziger Mechanismus, um die Energie einer großen Zahl verschiedenartiger Substrate nutzbar zu machen. Mit Hilfe der spezifischen Dehydrogenasen wird der Substratwasserstoff zunächst, meist ohne großen Energieabfall, auf das Pyridin der Codehydrogenase übertragen. Der Wasserstoff des hydrierten Pyridins stellt somit die wichtigste unmittelbare Energiequelle der oxydativen Phosphorylierung dar. Die Fähigkeit der Zelle, die verschiedenartigsten Substrate mit dem gleichen Wirkungsgrad zum Zwecke der Energiegewinnung auszunützen, beruht im wesentlichen darauf, daß sie in den spezifischen Fermentproteinen der Dehydrogenasen über die Mittel verfügt, den Wasserstoff dieser Substrate auf die gleichen Pyridincofermente (in verschiedenen Fällen auch auf gewisse Flavincofermente) zu übertragen und durch die Atmungskette zu oxydieren.