Bemerkungen über die oxydoreduktiven Verhältnisse der Cytochromkomponenten, und über die Verschiedenheit der Cytochromtypen der Zellen.

VON

Hiroshi Tamiya und Tadao Sato.

Mit 4 Textfiguren.

Eingegangen am 26. März 1937.

Nach der neulich publizierte Arbeit von H. TAMIYA und Y. OGURA¹⁾ sollen bei der Atmung von Bäckerhefen die einzelnen eisenhaltigen Atmungskatalysatoren wie folgt hintereinander angeordnet funktionieren.

O₂→O₂-Übertragendes Ferment→Indophenoloxydase→
Cytochrom *c*→Cytochrom *a*→Cytochrom *b*→Dehydrasesystem.

Die Reihenfolge von *c*-, *a*- und *b*-Cytochromkomponente wird bedingt durch die relative Höhe des Normalredoxpotentials, dessen höchster Wert zwar der *c*- und niedrigster Wert der *b*-Komponente zukommt. Bei atmenden Zellen stehen gewöhnlich die drei Cytochromkomponenten *miteinander* nicht in thermodynamischem Gleichgewicht, sondern in recht verschiedenen Mengenverhältnissen, die mit dem Verhältnis der Normalredoxpotentiale der einzelnen Komponenten direkt nichts zu tun haben. Wollen wir einstweilen die *a*-Komponente ausser Acht lassen, und bezeichnen mit:

γ : das Verhältnis $\frac{\text{Konzentration der reduzierten } c\text{-Komponente } [c'']}{\text{Konzentration der oxydierten } c\text{-Komponente } [c''']},$
 β : das Verhältnis $\frac{\text{Konzentration der reduzierten } b\text{-Komponente } [b'']}{\text{Konzentration der oxydierten } b\text{-Komponente } [b''']},$
 $\left(\frac{\gamma}{\beta}\right)_e$: das Verhältnis von γ zu β bei echtem thermodynamischem Gleichgewicht. So ist dieser Wert bedeutend grösser als 1.

Die unter verschiedenen Bedingungen zur Beobachtung kommenden oxydoreduktiven Verhältnisse sind nun folgende:

(1) $\frac{\gamma}{\beta} = 1$, d.i. die *c*- und die *b*-Komponente sind gleichmässig oxydiert.

1) TAMIYA, H. u. Y. OGURA: Acta Phytochim., 9 (1937), 123.

- (2) $\frac{\gamma}{\beta} = \left(\frac{\gamma}{\beta}\right)_c$. Die beiden Komponenten befinden sich miteinander in echtem Gleichgewicht.
- (3) $\left(\frac{\gamma}{\beta}\right)_c > \frac{\gamma}{\beta} > 1$.
- (4) $\frac{\gamma}{\beta} < 1$.

Die Fälle (3) und (4) wollen wir nach TAMIYA u.a. „Quasigleichgewicht-Erscheinung“ bzw. „kinetisch-stationäre Erscheinung“ nennen.

Man sieht leicht ein, dass bei stationär atmenden Zellen sich ein gewisses stationäres Potentialgefälle zwischen Sauerstoffort und Dehydraseort der Zellen einstellt, indem natürlich das Potential des Sauerstoffortes bedeutend höher als dasjenige des Dehydraseortes ist. Da das System Cytochrom *c*, *a* und *b* zwischen diesen zwei Orten eingeschaltet liegt, so müssen sich in stationär atmenden Zellen auch die einzelnen Cytochromkomponenten in verschiedenen Potentialniveau befinden, und zwar *c* in höchstem und *b* in niedrigstem. Man darf wohl annehmen, dass der stationäre Oxydoreduktionsgrad jeder Cytochromkomponente durch die an betreffender Stelle herrschende stationäre Elektronenaktivität und folglich durch das stationäre Redoxpotential bestimmt wird. Bezeichnet man nun mit

E'_{oc} und E'_{ob} : die Normalredoxpotentiale von *c* bzw. *b*,

E_{ox} : das stationäre Potential an der Grenze des Cytochrommediums an O₂-Seite (Oxydationsort des Cytochrommediums),

E_{red} : das stationäre Potential an der Grenze des Cytochrommediums an Dehydrase-Seite (Reduzierungsort des Cytochrommediums),

und ferner nimmt man an, dass E_{ox} dem Redoxpotential von stationärem $[c'']/[c''']$ -System, und E_{red} demjenigen von $[b'']/[b''']$ -System gleich ist, so ist

$$E_{ox} - E_{red} = E'_{oc} - E'_{ob} - \frac{RT}{n_1 F} \ln \frac{[c'']}{[c''']} + \frac{RT}{n_2 F} \ln \frac{[b'']}{[b''']}.$$

Ist $n_1 = n_2$, so ist diese Formel wie folgt umzuschreiben:

$$\Delta E = \Delta E'_o - \rho \log \left(\frac{\gamma}{\beta} \right), \quad (1)$$

worin:

$$\Delta E = E_{ox} - E_{red}, \quad \Delta E'_o = E'_{oc} - E'_{ob}, \quad \rho = \frac{RT}{n_1 F} \times 2.303$$

ist. Die Bedingungen für die in Frage kommenden vier Zustände sind also folgende.

- (1) Gleichgewicht: $\Delta E = 0$.
- (2) Quasigleichgewicht: $\Delta E'_o > \Delta E > 0$.
- (3) Gleichmässige Oxydoreduktion: $\Delta E = \Delta E'_o$.
- (4) Kinetisch-stationäre Erscheinung: $\Delta E > \Delta E'_o$.

Fig. 1.

In der schematischen Darstellung in der Fig. 1 ist das Potentialgefälle innerhalb des Cytochrommediums als geradlinig verlaufend vorgestellt, und die Beziehung von ΔE , also vom Neigungswinkel der Potentiallinie, zu verschiedenen oxydoreduktiven Verhältnissen bildlich veranschaulicht, wobei als E_{red} stets ein bestimmter Wert E'_{ob} angenommen wurde, was aber in Wirklichkeit nicht der Fall zu sein braucht.

Bei der kinetischen Betrachtung nach H. TAMIYA und Y. OGURA¹⁾ lässt sich der Wert γ/β auch folgendermassen formulieren:

$$\frac{\gamma}{\beta} = \frac{Kv}{k_o k_r [O_2][R]} \quad \text{oder} \quad \frac{v}{[O_2][R]} = \left(\frac{\gamma}{\beta}\right) \frac{k_o k_r}{K}, \quad (2)$$

wobei v : die Geschwindigkeit der Atmung,

K : die Geschwindigkeitskonstante bei der indirekten Reaktion des oxydierten c mit dem reduzierten b ,

k_o : die Geschwindigkeitskonstante bei der indirekten Reaktion des reduzierten c mit dem Sauerstoff,

k_r : die Geschwindigkeitskonstante bei der Reaktion des oxydierten b mit dem Dehydrasesystem,

$[O_2]$: die Konzentration des dargereichten Sauerstoffs,

$[R]$: die Stärke des Dehydrasesystems

bedeutet. Für jeden besprochenen Zustand gilt also wiederum folgende Beziehung:

$$(1) \text{ Gleichgewicht: } \frac{v}{[O_2][R]} = \left(\frac{\gamma}{\beta}\right) \frac{k_o k_r}{K},$$

1) TAMIYA, H. u. Y. OGURA: loc. cit. S. 142 ff.

(2) Quasigleichgewicht: $\left(\frac{\gamma}{\beta}\right)_e \frac{k_o k_r}{K} > \frac{v}{[O_2][R]} > \frac{k_o k_r}{K},$

(3) Gleichmässige Oxydoreduktion: $\frac{v}{[O_2][R]} = \frac{k_o k_r}{K},$

(4) Kinetisch-stationäre Erscheinung: $\frac{v}{[O_2][R]} < \frac{k_o k_r}{K}.$

Bekanntlich steht v mit $[R]$ und $[O_2]$ folgendermassen in Zusammenhang:

$$v = \frac{\lambda[R][O_2]}{\mu[R] + \nu[O_2]},$$

wobei λ , μ und ν die Konstanten sind. Das Verhältnis von v zu $[O_2]$ bzw. von $v/[O_2]$ zu $[O_2]$ bei konstantem $[R]$, sowie das Verhältnis von v zu $[R]$ bzw. von $v/[R]$ zu $[R]$ bei konstant bleibendem $[O_2]$ sind in der Fig. 2 bzw. 3 dargestellt.

Die punktierten Linien in den beiden Figuren entsprechen dem Zustand der gleichmässigen Oxydoreduktion, und die Ordinatenachse dem

Fig. 2.

Fig. 3.

echten Gleichgewicht von Cytochromkomponenten. An der linken Seite der punktierten Linien herrscht der Quasigleichgewichtszustand, während sich an den rechten Seiten derselben kinetisch-stationäre Erscheinung geltend macht.

Experimentell ist es bekannt, dass bei gleichbleibender Stärke des Dehydrasesystems die Intensität des Cytochromstreifens abhängig von der Menge des dargereichten Sauerstoffs ist. Für die *b*-Komponente darf man demnach folgende Gleichung aufstellen:

$$\frac{[b'']}{[b''']} = \frac{k_r[R]}{k_o'[O_2]}$$

oder

$$\left. \begin{aligned} \frac{[b''']}{B} &= \frac{k_o'[O_2]}{k_o'[O_2] + k_r[R]}, \\ \frac{[b'']}{B} &= \frac{k_r[R]}{k_o'[O_2] + k_r[R]}, \end{aligned} \right\} \quad (3)$$

wobei *B*: die Gesamtkonzentration der *b*-Komponente,

k'_o: die Geschwindigkeitskonstante bei der indirekten Reaktion von

reduziertem b mit dem Sauerstoff bedeutet. Dann ist

$$v = k_r [b'''] [R] = \frac{k'_o k_r B [O_2] [R]}{k'_o [O_2] + k_r [R]}. \quad (4)$$

Die bei gleichmässiger Oxydoreduktion herrschende O_2 -Konzentration, die wir mit $[O_2]_g$ bezeichnen wollen, lässt sich nach (2) und (4) wie folgt ausdrücken:

$$[O_2]_g = \frac{KB}{k_o} - \frac{k_r [R]}{k'_o}. \quad (5)$$

Bezeichnet man die O_2 -Konzentration, in welcher ein eben wahrnehmbarer b -Streifen zur Beobachtung kommt, mit $[O_2]_b$, und das Verhältnis $B/[b'']$ in dieser Bedingung mit ω , so ist nach (3)

$$[O_2]_b = \frac{k_r [R]}{k'_o} (\omega - 1). \quad (6)$$

Aus (5) und (6) und unter Berücksichtigung des Umstandes, dass ω bedeutend grösser als 1 sein soll, erhalten wir schliesslich die Beziehung:

$$\frac{[O_2]_g}{[O_2]_b} = \frac{m}{[R]}, \quad (7)$$

worin m eine Konstante und gleich $k'_o KB / k_o k_r \omega$ ist.

Ist $R > m$, so ist $[O_2]_b$ grösser als $[O_2]_g$, d.i. man beobachtet bei $[O_2]_b$ eine kinetisch-stationäre Erscheinung. Vorausgesetzt, dass die Streifen c und b bei voller Reduzierung gleich intensiv sind, ist hierbei der c -Streifen nicht wahrnehmbar, während der b -Streifen eben nachweisbar ist. Wenn dagegen $R < m$, so liegt $[O_2]_b$ im Bereich des Quasigleichgewichtszustandes, sodass dabei, gleiches vorausgesetzt wie oben, der c -Streifen sich viel deutlicher zeigt als der b -Streifen. Alle diese theoretische Folgerungen stimmen gut mit den Tatsachen überein, die TAMIYA und OGURA experimentell konstatiert haben.

Die obige Entwicklung der Theorie bietet uns auch einen neuen Weg zur Erklärung der Verschiedenheit des Cytochromtyps bei verschiedenen Zellen. Es ist wohl denkbar, dass die Zellen unter normalen ökologischen Bedingungen im grossen und ganzen bestimmte stationäre Werte von E_{ox} und E_{red} aufweisen. Bezeichnet man mit $\tilde{E}_c$, $\tilde{E}_a$ und $\tilde{E}_b$ die Potentialspanne, innerhalb deren die Komponenten c , a bzw. b mit guter Reversibilität ihre Transporteurfunktion bewirken können, so könnte E_{ox} nicht höher sein als die obere Grenze von $\tilde{E}_c$, und E_{red} nicht niedriger sein als die untere Grenze von $\tilde{E}_b$, weil sonst die Transporteurfunktion des Cytochromsystems sehr schlecht wird. Da E_{ox} stets höher als E_{red} ist, so sind

in Bezug auf das Niveauverhältnis von ökologisch normalem E_{ox} und E_{red} denkbar nur folgende 6 Möglichkeiten vorhanden:

- (I) E_{ox} und E_{red} liegen ebenfalls innerhalb von $\tilde{E}_c$. Hierbei kann nur c als Transporteur funktionieren, sodass das Vorhandensein von a und b unnötig ist.
- (II) E_{ox} liegt in $\tilde{E}_c$ und E_{red} in $\tilde{E}_a$. Die Zelle muss hierbei c und a enthalten,
- (III) E_{ox} liegt in $\tilde{E}_c$ und E_{red} in $\tilde{E}_b$. Die Zelle muss alle Cytochromkomponenten besitzen.

Fig. 4.

- (IV) E_{ox} und E_{red} liegen innerhalb von $\tilde{E}_a$. Nur a ist notwendig, während c und b entbehrlich sind.
- (V) E_{ox} liegt in $\tilde{E}_a$ und E_{red} in $\tilde{E}_b$. Hierbei sind a und b unentbehrlich, während c überflüssig ist.
- (VI) E_{ox} und E_{red} liegen innerhalb von $\tilde{E}_b$, sodass nur b , nicht aber c und a , notwendig ist.

Die Verhältnisse sind in der Fig. 4 schematisch dargestellt.

Für alle hierbei vorausgesagten Möglichkeiten der Cytochromtypen, allerdings nur mit der Ausnahme von (IV), finden wir triftige Beispiele in der Natur, wie es aus der beiliegenden Tabelle hervorgeht.

Aus dieser Zusammenstellung lässt sich nun folgendes sagen. Bei niederen Tieren wie Bandwürmer und Protozoen dürfte E_{ox} hoch und E_{red} nicht niedrig sein. Bei gewöhnlichen aeroben Zellen soll E_{ox} hoch und E_{red} niedrig, und bei fakultativ anaeroben Zellen E_{ox} nicht hoch und E_{red} niedrig sein, was von vornherein höchst wahrscheinlich ist. Nicht erklärt zu sein scheint der Tatbestand, dass gewisse Bakterien einen Cytochromtyp b, c (ohne a) aufweisen. Zur Zeit möchten wir es dahingestellt lassen, ob dabei doch eine spektroskopisch kaum wahrnehmbare Menge von a vorhanden ist, oder ob irgend eine andere Komponente (etwa a_2) die Rolle von a übernimmt, oder aber ob dabei c und b ohne Intervenierung von a

	E_{ox}	E_{red}	Cytochromtyp	Beispiele
I	hoch ($\tilde{E}_c$)	hoch ($\tilde{E}_c$)	c	Bandwürmer ¹⁾ (<i>Diphylobothrium latum</i> , <i>Triaenophorus lucii</i>)
II	hoch ($\tilde{E}_c$)	mittelmässig ($\tilde{E}_a$)	c, a	Protozoen ²⁾ (<i>Paramecium caudatum</i>)
III	hoch ($\tilde{E}_c$)	niedrig ($\tilde{E}_b$)	c, a, b	Gewebe höherer Tiere, Bäckerhefe, Aerobe Bakterien
IV	mittelmässig ($\tilde{E}_a$)	mittelmässig ($\tilde{E}_a$)	a	
V	mittelmässig ($\tilde{E}_a$)	niedrig ($\tilde{E}_b$)	a, b	Fakultativ anaerobe Bakterien
VI	niedrig ($\tilde{E}_b$)	niedrig ($\tilde{E}_b$)	b	Fakultativ anaerobe Bakterien

gegenseitig glatt Oxydoreduktion bewirken können. Jedenfalls hat man die Möglichkeit ins Auge zu fassen, dass die Komponente a auch in winziger Menge wirksam sein könnte, wenn sie—wie es TAMIYA und OGURA vermuteten—etwa an der Oberfläche des b -Dehydrasesystem-Komplexes fest-sitzend funktioniere. Andererseits hat das neuere *in vitro*-Experiment von E. YAKUSHIJI und T. MORI³⁾ gezeigt, dass die Komponenten c und b auch in Abwesenheit von a miteinander recht glatt oxydoreduktiv wirken können.

Wie schon bemerkt, verstehen wir in dieser letzteren Auseinander-
setzung als E_{ox} und E_{red} diejenigen Grössen, die die Zellen in normalen
ökologischen Bedingungen zu zeigen pflegen. In Wirklichkeit können diese
beiden Werte je nach der Zufuhr des Sauerstoffs und des Atmungs-
substrates in gewissen Grenzen variieren, sodass die Zellen für solche
Notfälle auch manchmal eine oder die andere Komponente, die in normalen
Verhältnissen nicht notwendig ist, in geringer Menge in Bereitschaft halten
dürften. Auch ist es wohl möglich, dass der Cytochromtyp von einem
Organismus durch Anpassung an einem besonderen ökologischen Verhältnis

1) FRIEDHEIM, E. A. II. u. J. G. BAER: Biochem. Zeitschr., **262** (1933), 329.

2) Noch nicht veröffentlichte Beobachtung von den Verfassern.

Nach der mündlichen Mitteilung von Dr. T. YAMAMOTO im zoologischen Institut
der kaiserl. Universität zu Tokyo ist das Zellpotential von *Paramecium caudatum* so
hoch, dass im Zellinnern das BINDSCHEDLER-Grün dauernd in oxydierter Form bleibt.

3) YAKUSHIJI, E. u. T. MORI: Acta Phytochim., **10** (1937), im Druck.

weitgehend modifiziert werden kann.

Zum fünfundzwanzigjährigen Professur-Jubiläum unseres verehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. KEITA SHIBATA, sei ihm diese Arbeit in herzlichster Gratulation und Dankbarkeit gewidmet.

Botanisches u. zoologisches Institut
der Kaiserl. Universität zu Tokyo;
Tokugawa Biologisches Institut, Tokyo.

Aluminium Requirements of Solfatara-plants.¹⁾

By

Yoshiji Yoshii.

With 2 Text-figures.

Received March 27, 1937.

Introduction.

In recent years the essential nature of special elements for the growth and production of plants has been studied by various investigators. As for aluminium which is widespread in plants (YOSHII and JIMBO 1932), its toxic action on crops was thoroughly discussed, and this element was claimed to be toxic in very low concentration²⁾, and even the toxic action of acid soil was attributed by the majority of workers to aluminium dissociated to a high degree in an acidified field. Concerning the beneficial effect of aluminium upon growth, however, very little is known. MAZÉ (1915) was the first who referred to the essential nature of aluminium for the normal development of corn, and later the relation of this element to plant growth was profoundly studied by STOKLASA (1923). Among many important results obtained, he found that hygrophilous plants made better growth in the nutrient solution supplied with as large an amount of aluminium as 0.001 atomic weight in 1 L, i. e. in a concentration of 27 p. p. m. In 1928

1) Contributions from the Mt. Hakkoda Botanical Laboratory, No. 25.

2) According to a recent investigation by LIGON and PIERRE (1932), which was carried on by changing alternately aluminium and phosphate in the nutrient solution, many cereals were found to be aluminium sensitive and their growth injured in a concentration as low as 1 p. p. m.