



Doctoral Thesis

Untersuchung des Natrium-abhängigen D-Glucose Transportes in der intestinalen Bürstensaummembran die Rolle von Thiolgruppen

Author(s):

Biber, Walter Jürg

Publication Date:

1979

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000191101> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss ETH 6363

UNTERSUCHUNG DES NATRIUM-ABHAENGIGEN D-GLUCOSE TRANSPORTES
IN DER INTESTINALEN BUERSTENSAUMMEMBRAN;
DIE ROLLE VON THIOLGRUPPEN

A B H A N D L U N G

zur Erlangung

des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften

der

E I D G E N O E S S I S C H E N T E C H N I S C H E N
H O C H S C H U L E Z U E R I C H

vorgelegt von

W A L T E R J U E R G B I B E R

dipl. Natw. ETH

geboren am 7. Juli 1949

von Zürich

Prof. Dr. G. Semenza, Referent

PD. Dr. H. Hauser , Koreferent

7. Zusammenfassung

An isolierten Bürstensaummembran-Vesikeln aus dem Dünndarm vom Kaninchen wurden die Funktionen von SH-Gruppen bei den Transportvorgängen der Na^+ -abhängig transportierten Substrate D-Glucose und neutrale Aminosäuren untersucht. Dazu wurden SH-Reagenzien mit verschiedenen Reaktionsmechanismen verwendet:

- a) Alkylierende Reagenzien: N-Aethylmaleinimid und ein impermeables Derivat davon.
- b) Oxidierende Reagenzien: Cu^{++} -(o-Phenanthrolin)₂ und Diamid.
- c) Komplexierende Reagenzien: Arsenit und Cd^{++} .

Bezüglich diesen Transportvorgängen wurden grundsätzlich zwei Effekte der SH-Reagenzien festgestellt:

- Eine Reduktion der Akkumulation dieser Substrate bei einem mit 100 mM NaSCN erzeugten elektrochemischen Potentialgradienten $\Delta\tilde{\mu}_{\text{Na}}$. Dieser Effekt konnte mit einer spezifischen Erhöhung der Permeabilität für Kationen (Natrium, Kalium) erklärt werden. Die Integrität der Vesikel wurde durch die SH-Reagenzien nicht gestört. Eine definitive Zuordnung dieser Permeabilitätserhöhung zu einem bestimmten Transportsystem war nicht möglich. Es wurde vermutet, dass die Kationenpermeabilität der Na^+ -abhängigen Systeme von D-Glucose und der neutralen Aminosäuren verändert wurde.
- Für die direkte Beteiligung von SH-Gruppen an der Translokation von D-Glucose und der neutralen Aminosäuren bei $\Delta\tilde{\mu}_{\text{Na}} = 0$ konnten keine Hinweise erhalten werden. Interessanterweise wurde aber als gleichzeitiger Effekt zu der Erhöhung der Permeabilität für Natrium auch Veränderungen der Transporte von L-Glucose und D-Alanin (bei $\Delta\tilde{\mu}_{\text{Na}} = 0$) beobachtet. Die Aufnahme von D-Fructose wurde durch die SH-Reagenzien nicht beeinflusst.

Es wurden Hinweise dafür erhalten, dass die funktionell wichtigen SH-Gruppen wahrscheinlich an der inneren Membranoberfläche lokalisiert sind und in einer vicinalen Konfiguration vorliegen und deshalb zu dem entsprechenden Disulfid oxidiert werden können. Diese Oxidation war aber nur mit Cu^{++} -(o-Phenanthrolin)₂ möglich, nicht aber mit Diamid. Beide Reagenzien verringerten aber die Anzahl der freien SH-Gruppen um etwa die gleiche Menge. Auf Grund dieser Tatsache konnte mit Hilfe einer gut definierten SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese eine niedrigmolekulare Proteinkomponente

identifiziert werden (Protein I₇, MG ca. 10'000 D).

Es war gerechtfertigt anzunehmen, dass durch die Modifikation der SH-Gruppen des Proteins I₇ die oben genannten Effekte erzielt wurden. Zusammen mit den Tatsachen, dass diese SH-Gruppen mit D-Glucose und Phlorizin partiell geschützt werden können, und dass die spezifische Bindung von Phlorizin mit SH-Reagenzien unterdrückt werden kann, wurde die Hypothese aufgestellt, dass das Protein I₇ möglicherweise eine Untereinheit der Na⁺-abhängigen Transportsysteme von D-Glucose und der neutralen Aminosäuren darstellt.

Die definitive Abklärung der Funktion des Proteins I₇ kann eventuell ein wesentlicher Beitrag zu den Struktur-Funktions Beziehungen solcher Transportsysteme liefern.

Summary

The role of SH-groups in the sodium-dependent transport of D-glucose and neutral aminoacids in brush border vesicles isolated from rabbit small intestine has been investigated. It can be shown that the accumulation of these substrates in the presence of an electro-chemical potential gradient is inhibited by the interaction of vicinal SH-groups with certain SH-reagents. These SH-groups are probably located on the inner surface of the membrane. Due to the different reactivity of these SH-groups towards various SH-reagents used, it is possible to identify by SDS-Gelelectrophoresis a low molecular weight protein of the brush border membrane (component I₇, Mr - 10'000 D) that is directly or indirectly involved in D-glucose transport. The exact function of this protein is unknown.

Experimental evidence suggests that blocking the SH-groups of this protein with various SH-reagents induces changes in the permeability of Na⁺ (and K⁺), L-glucose and D-Alanin but not of D-glucose, L-alanin and D-fructose.

Based on the fact that these functional SH-groups can be protected from the interaction with SH-reagents by D-glucose and phlorizin and that the specific binding of phlorizin is affected by these SH-reagents in a similar manner as the accumulation of D-glucose, it is postulated that the protein I₇ is a subunit of the sodium-dependent transport systems of D-glucose and the neutral amino acids.