



## Doctoral Thesis

# Untersuchungen zur Isolierung und Charakterisierung der membranären acetylcholinbindenden Proteine im elektrischen Organ von *Torpedo marmorata*

**Author(s):**

Marchand, Claudine

**Publication Date:**

1976

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000191362> →

**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. Nr. 5852 *ex.B*

Untersuchungen zur Isolierung und Charakterisierung  
der membranären acetylcholinbindenden Proteine im  
elektrischen Organ von *Torpedo marmorata*



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

C L A U D I N E M A R C H A N D

dipl. Natw. ETH

geboren am 7. Juni 1949

von Zürich (Kt. Zürich)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. R. Schwyzer, Referent

Prof. Dr. H. Zuber, Korreferent

Neben dieser Fehlerquelle spielen beim grossen apparativen Aufwand sehr viele technische Parameter eine Rolle. Die Eigenschaften der Membranen (bis 10% Schwankungen der  $K_D$  von einer Membran zur andern) und der Verbindungsschläuche müssen genau auf eventuelle Interaktionen mit den Liganden oder dem Protein getestet werden. Es sollten immer die gleichen Pumpenköpfe mit Schläuchen gleichen Durchmessers verwendet werden. Endlich können auch Volumenänderungen des RK im Verlauf eines Experiments festgestellt werden, die vor allem von der verwendeten Membran abhängig sind. Alle diese Variablen spielen in die Auswertung der Flow Dialyse-Resultate hinein. Diese Methode eignet sich im Augenblick hervorragend, um rein qualitativ in relativ kurzer Zeit mit nicht zu grossem Aufwand Aussagen über Interaktionen zwischen kleinen Molekülen und Proteinen zu ermöglichen. Bis quantitative Angaben aus der Flow Dialyse erhalten werden können, müssen zuerst die apparativen Parameter besser kontrollierbar sein. Auch sollte ein Vergleich mit einem gut untersuchten Protein-Ligand-System zwischen der Gleichgewichtsdialyse nach Weder (116) und der Flow Dialyse durchgeführt werden.

### 2.3.5 Zusammenfassung

Für die Hydrolyse scheint ACh am aktiven Zentrum der Esterase eine gestrecktere Konformation einzunehmen als an den Rezeptoren. Der Abstand zwischen den polaren Gruppen wird mit etwa  $5 \text{ \AA}$  angegeben. Da die drei untersuchten Analoga eine zu sperrige Seitenkette besitzen, um richtig ans aktive Zentrum angelagert zu werden (38), war mit einer geringeren Auswirkung der Modifikation des Carbonylbereichs zu rechnen, was sich in der Differenz im  $K_I$  von AOCB und AATA bemerkbar machte. Für die Hemmung der AChE scheint im vorliegenden Fall vor allem die quaternäre Ammoniumgruppe wichtig zu sein. Durch Bindung an eines der anionischen Zentren der AChE wird diese in einer inaktiveren Konformation fixiert.

Zudem wäre hier zu beachten, dass nicht mit einer einheitlichen AChE - Population gearbeitet wurde, sondern in der Lösung verschiedene Aggregations-

formen auftraten, welche sich wahrscheinlich auch in ihrer Aktivität unterscheiden. Die Aktivitätsbestimmungen sollten bei höherer Ionenstärke, mindestens 1 M NaCl, durchgeführt werden, um mit einer einigermaßen homogenen Population rechnen zu können. Ob die erhöhte Ionenstärke besondere Auswirkungen auf das Verhalten der AChE zeigen würde, steht noch offen.

Die Beobachtung, dass AChE-Moleküle reversibel aggregieren, mit abnehmender Ionenstärke der Lösung, wurde bereits 1965 beschrieben (118). In der hier untersuchten Lösung scheinen auch Zwischenformen der bisher erwähnten 9 S, 11 S, 14 S und 18 S AChE-Moleküle (116,118,119) aufzutreten. Das grösste Aggregat fehlt, jedoch erscheint eine kleinere Form mit etwa 7 S. D. Millar (120) entdeckte in seiner AChE-Präparation (Triton-Extrakt) eine aktive Form mit 7.4 S, welche einem halben Tetramer entsprechen dürfte. Bis heute konnte die Grösse der eigentlichen funktionellen Einheit der AChE in der neurogenen Membran noch nicht identifiziert werden.