

Diss. ETH 5444

**UNTERSUCHUNGEN AN DEN MICROVILLIMEMBRANEN  
AUS HAMSTERDUENNDARM  
ISOLIERUNG, SOLUBILISATION, REKONSTITUTION  
REINIGUNG VON LACTASE UND GLUCOAMYLASE**

**A B H A N D L U N G**

zur Erlangung des Titels eines Doktors  
der Naturwissenschaften der  
**EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE ZUERICH**

vorgelegt von

**S u s a n n a S c h l e g e l - H a u e t e r**  
Dipl. Natw. ETH

geboren am 19. Mai 1947  
von Buchs (Kt. St. Gallen)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. G. Semenza, Referent  
Prof. Dr. E. Carafoli, Korreferent

Clausthal-Zellerfeld  
Böneck-Druck  
1975

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Lactase und Glucoamylase wurden aus Dünndärmen von jungen Ratten in hoher Reinheit durch Solubilisation mit Papain, Sepharose 2B - Sephadex G-200 - und DEAE-Zellulosechromatografie erhalten.

Es wurden einige Eigenschaften der Lactase untersucht: pH-Aktivität: Maximum bei pH 5,2; pH-Stabilität: Maximum bei pH 6; Hitzeempfindlichkeit: Die Lactase ist stabil bei  $-20^{\circ}\text{C}$  und instabil bei Temperaturen über  $37^{\circ}\text{C}$ .

Bürstensaum - oder Microvillimembranen aus Hamsterdünndarm wurden isoliert und gereinigt. Sie zeigten einen  $\text{Na}^+$  - abhängigen Glucosetransport, der durch Phlorizin hemmbar war.

Kaninchensaccharase (mit Papain solubilisiert) wurde mit Phospholipiden aus *Micrococcus lysodeicticus* durch Dialyse rekonstituiert.

Microvillimembranen wurden mit Natriumcholat solubilisiert und zusammen mit Eilecithin durch Ausdialysieren des Cholats rekonstituiert.

Microvillimembranen und Liposomen aus Eilecithin wurden zusammen beschallt und die entstandenen Produkte auf Gelchromatografie, Ionentauscherchromatografie und Dichtegradienten untersucht. Es wurden gute Hinweise darauf gefunden, dass dabei unter andern Produkten kleine (einschalige) Liposomen mit Proteinen an den Bilayer assoziiert entstanden sind: Sie lassen sich in der Sepharose 2B von grösseren Partikeln und in der Sepharose 6B von gelösten Proteinen trennen; sie zeigen auf der DEAE-Zellulosechromatografie verschiedene Oberflächenladungen und bilden im Dichtegradienten Banden, die fast so leicht wie Lecithinliposomen sind, die aber Proteine enthalten.

Summary

Lactase and glucoamylase were purified to a very high extent (solubilisation by papain, chromatography on Sepharose 2B, Sephadex G-200 and DEAE-cellulose). Some properties of lactase were investigated.

Brush-border membranes from hamster small intestine were isolated and purified. They showed a sodium-dependent glucose transport which was inhibited by phlorizin.

Rabbit -sucrase (solubilized by papain) was reconstituted with phospholipids from *Micrococcus* by dialysis.

Brush-border membranes were solubilized by sodiumcholate and reconstituted by adding egg-lecithin followed by dialysis.

Brush-border membranes were sonicated together with egg-lecithin. Products thus obtained have been investigated on gel filtration, ion exchange chromatography and density gradients. There was good evidence that single bilayer liposomes with associated proteins were among the obtained products.