

Diss. ETH 5474

**REKONSTITUTION EINES SACCHARASE-ABHAENGIGEN
ZUCKERTRANSPORTSYSTEMS IN KUENSTLICHEN
LIPID-MEMBRANEN**

ABHANDLUNG

zur Erlangung

des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften
der

EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

H A N S V O E G E L I

dipl. Natw. ETH

geboren am 19. April 1946
von Hägendorf (Kt. Solothurn)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. G. Semenza, Referent
Dr. H. Hauser, Korreferent

Clausthal-Zellerfeld

Bönecke-Druck

1975

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird der Saccharase-Isomaltase-Komplex (SI), ein Glycoprotein aus der Bürstensaummembrane des Dünndarmes, in künstliche Lipidmembranen eingebaut. Dieser Einbau bewirkt eine erhöhte Permeabilität der Membranen gegenüber Glucose und Fructose, wenn diese in Form von Saccharose zugesetzt werden. Die erhöhte Durchlässigkeit ist sowohl in planaren Bilayern als auch in Liposomen beobachtet worden. Sie ist Substrat-spezifisch, denn die Diffusion von freier Glucose oder Mannitol wird nicht beeinflusst. Im weiteren geben eine fehlende Abhängigkeit von Natriumionen und eine fehlende Hemmung durch Tris - welches die hydrolytische Aktivität des SI-Komplexes beeinflusst - die Berechtigung, dieses künstliche System mit dem natürlichen Disaccharidase-abhängigen Transportsystem im Hamsterdünndarm zu vergleichen.

Die Rekonstitution dieses Transportsystemes gelingt nur in Gegenwart des aktiven SI-Komplexes. Bei Verwendung inaktiver Formen des Enzyms oder eines Proteins, das mit dem SI-Komplex immunologisch kreuzreagiert, zeigt sich keinerlei Wirkung.

Es muss daher angenommen werden, dass auch das an biologischen Membranen beobachtete Disaccharidase-abhängige System auf den dort lokalisierten SI-Komplex selbst zurückzuführen ist. Da Hydrolyse- und Transportaktivität des SI-Komplexes nicht stöchiometrisch verknüpft sind - im natürlichen wie im rekonstituierten System - , wird vermutet, dass der Teil der Enzymmoleküle, die in den Transportprozess verwickelt sind, tiefer in die Lipidmatrix der Membranen eindringt. Die dadurch erfolgende Aenderung der Mikroumgebung dient als Erklärung dafür, dass sich die kinetischen Parameter der Hydrolyseaktivität des freien und der Trans-

portaktivität des Membran gebundenen Enzyms unterscheiden (pH-Abhängigkeit, Tris-Hemmung, möglicherweise K_m).

Die wiedergewonnene Transportaktivität des SI-Komplexes ist unabhängig von der Art, das Ausmass der Bindung abhängig von der Ladung der verwendeten Lipide.

Die vorgelegten Resultate erlauben qualitative Aussagen über das Transportsystem; mögliche Mechanismen können deshalb nur diskutiert werden.

Summary

The sucrase-isomaltase-complex (SI), a glycoprotein localized in the intestinal brushborder membrane, is incorporated into artificial lipid membranes.

This results - as tested in bilayers and liposomes - in a specific increase of permeability for glucose and fructose, when supplied as sucrose. Permeability of free glucose and of mannitol is not affected. No Na^+ -dependence or Tris-inhibition of this transport could be shown.

The artificial system has an absolute requirement for active SI; inactivated SI produces no effects. Although the system shows no specific lipid requirements, the binding of SI to lipid membranes is affected by the charge of the lipids used. Since also the rates of hydrolysis and transport are not identical, it is assumed that some SI is incorporated deeper in the hydrophobic core of the membrane and is responsible for the transport activity.

It is concluded, that the artificial system might be identical with the disaccharidase-related transport system in the hamster small intestine. Mechanisms are discussed.