

*Aus dem Institut für Physiologische Chemie der Universität Köln*

## **Enzymatische Untersuchungen zum Stoffwechsel der Polyenfettsäuren**

*Von W. Stoffel*

Mit 22 Abbildungen und 10 Tabellen

Die experimentellen Ergebnisse und Erkenntnisse über die Biosynthese und den biologischen Abbau hochungesättigter Fettsäuren, die in meinem Arbeitskreis erarbeitet wurden (1), werde ich, ergänzt durch neue Befunde, entwickeln, darüber hinaus zu der Frage Stellung nehmen, welche enzymatischen Reaktionen zu der spezifischen Verteilung der Polyenfettsäuren in den Phospholipoidmolekülen führen und welche Bedeutung diese für die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Phospholipide hat. An Hand eines Beispiels soll die mögliche Funktion der ungesättigten Säuren in den Phospholipiden diskutiert werden.

### **I. Biosynthese von Polyenfettsäuren**

Wir haben die Biosynthese der Polyenfettsäuren in zwei Teilreaktionen gegliedert und diese untersucht:

1. die Kettenverlängerungs-Reaktion, die aus der  $C_{16}$ - und  $C_{18}$  in die  $C_{20}$ - und  $C_{22}$ -Reihe führt und
2. die Desaturierungs- oder Olefinierungs-Reaktion, in der stereo- und stellungs-spezifisch cis-olefinische Bindungen im Polyallyl-Rhythmus in Alkanketten eingeführt werden.

#### *1) Kettenverlängerungs-Reaktion*

Ich beschränke mich bei meinem Bericht auf die Systeme der tierischen Zelle. Zwei Enzymsysteme sind für die Biosynthese der langkettigen Fettsäuren verantwortlich: Das erste synthetisiert die gesättigten Säuren, z.B. Palmitinsäure und Stearinsäure, benötigt als Substrate nur Acetyl- und Malonyl-CoA und reduziertes Triphosphopyridinnukleotid; das zweite katalysiert keine de novo Synthese, sondern benötigt einen langkettigen Precursor, sei er nun der Coenzym A-Ester der Myristin-, Palmitin-, Stearinsäure oder vor allem der essentiellen Linol- und Linolensäure und Malonyl-CoA, sowie gleichfalls reduziertes Triphosphopyridinnukleotid.

Beide Enzymsysteme besitzen Gemeinsamkeiten und Unterschiede. Gemeinsam ist ihnen der Reaktionsmechanismus, nach dem die Kohlenwasserstoffkette verlängert wird. Nicht Acetyl- sondern Malonyl-CoA kondensiert unter Decarboxylierung mit einer über eine Thioesterbindung aktivierten Acylgruppe. Der so gebildete 3-Keto-acyl-thioester wird durch NADPH zur D(-)-3-Hydroxyacylgruppe reduziert, diese zum 2 trans-Enoyl-Thioester dehydratisiert. Erneute Reduktion durch NADPH führt zur um eine Acetyleinheit längeren Acylgruppe.

Stoffel, Stoffwechsel der Polyenfettsäuren

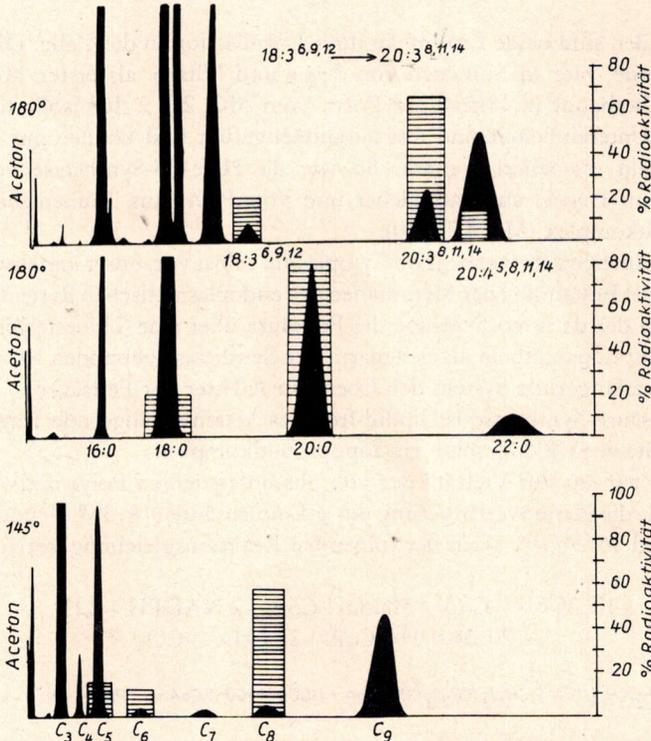


Abb. 2. Radiogaschromatographische Analysen nach Kettenverlängerung von 18:3<sup>6,9,12</sup> mit Malonyl-CoA. Oben: Methylester-Gemisch des Inkubationsansatzes. Mitte: dasselbe nach katalytischer Hydrierung. Unten: Dicarbonsäuredimethylester nach oxidativer Ozonolyse.

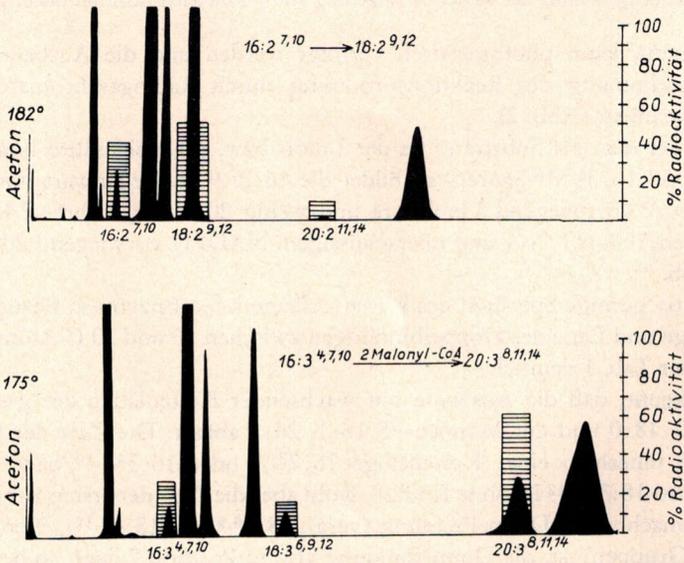


Abb. 3. Radiogaschromatographische Analyse nach Kettenverlängerung von 16:2<sup>7,10</sup> u. 16:3<sup>4,7,10</sup>.

Tab. 1.

Substrate 1- <sup>14</sup> C-Fettsäure	Reaktionsprodukte	Kettenverlängerung %
<b>I. Linolsäuretyp</b>		
16:2 <sup>7,10</sup>	18:2 <sup>9,12</sup> 18:3 <sup>6,9,12</sup>	65
16:3 <sup>4,7,10</sup>	18:3 <sup>6,9,12</sup> 20:3 <sup>8,11,14</sup> 20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	80
18:2 <sup>9,12</sup>	20:2 <sup>11,14</sup> 20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	25
18:3 <sup>6,9,12</sup>	20:3 <sup>8,11,14</sup> 20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	80
20:3 <sup>8,11,14</sup>	20:4 <sup>5,8,11,14</sup> 22:3 <sup>10,13,16</sup> 22:4 <sup>7,10,13,16</sup>	15
20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	22:4 <sup>7,10,13,16</sup> 22:5 <sup>4,7,10,13,16</sup>	40
<b>II. Linolensäuretyp</b>		
18:3 <sup>9,12,15</sup>	20:3 <sup>11,14,17</sup>	10
18:4 <sup>6,9,12,15</sup>	20:4 <sup>8,11,14,17</sup> 20:5 <sup>8,11,14,17,</sup>	65
<b>III. Ölsäuretyp</b>		
18:1 <sup>9</sup>	20:1 <sup>11</sup>	10
18:2 <sup>6,9</sup>	20:2 <sup>8,11</sup> 20:3 <sup>5,8,11</sup>	70
20:1 <sup>11</sup>	22:1 <sup>13</sup> 22:2 <sup>10,13</sup>	5
<b>IV. Isomere</b>		
18:3 <sup>8,11,14</sup>	20:3 <sup>10,13,16</sup> 20:4 <sup>7,10,13,16</sup>	5
iso-18:3 <sup>6,9,12</sup>	iso-20:3 <sup>8,11,14</sup> iso-20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	60

Wir erkennen aus dieser Tabelle weiterhin, daß die Kohlenstoffkette auch der essentiellen Fettsäuren in der tierischen Zelle ohne Schwierigkeit aufgebaut werden kann. Die Linol- und Linolensäure sind deshalb essentiell, weil die Zelle in der Ontogenese offenbar das Enzym, das Doppelbindungen jenseits von C<sub>9</sub>, also in Stellung 12, 15 etc. in das Methylende einführt, verloren hat. Alle in der tierischen Zelle ablaufenden Olefinierungen finden in den Polyensäuren grundsätzlich am

Carboxylende der Polyensäuren stereo- und stellungsspezifisch statt, d. h. sie besitzen cis-Konfiguration und sind durch eine Methylengruppe von der benachbarten Doppelbindung isoliert.

## 2) Desaturase-Reaktion

So wie die Kettenverlängerung haben wir auch die *Olefinierung oder Desaturierung* im zellfreien System isoliert untersucht. Als Substrate dienten uns die unmittelbaren Vorstufen der Arachidonsäure, die Eicosa-8, 11-dien-(20:2<sup>11,14</sup>) und Eicosa-8, 11, 14-triensäure 20:3<sup>8,11,14</sup> bzw. ihr Coenzym A Ester (Abb. 4).

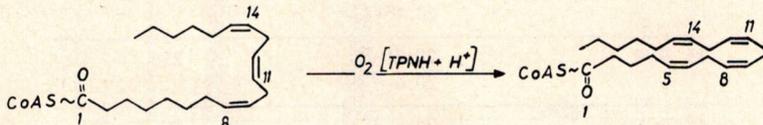


Abb. 4. Desaturierung von [1-<sup>14</sup>C] 20:3<sup>8,11,14</sup>-CoA zu [1-<sup>14</sup>C] 20:4<sup>5,8,11,14</sup>-CoA (Arachidonsäure Coenzym A-Ester).

So konnten einmal die Cofaktoren und zum anderen das Zellkompartiment bestimmt werden. Das Enzym, das stellungsspezifisch die Doppelbindungen in das Carboxylende der Polyensäuren einführt, z. B. unter Bildung der Arachidonsäure, benötigt molekularen Sauerstoff und reduziertes NADPH, besitzt also die Kriterien einer misch-funktionellen Oxidase. Es besitzt damit gleiche Cofaktoren wie die Desaturase, die Ölsäure bildet, eine Reaktion, die von *Bloch* (2) untersucht wurde.

Tab. 2. Mögliche Kofaktoren und Inhibitoren der Olefinierungsreaktionen

Komponenten	Konz. (Mol/l)	relative Ausbeute %
—		100
FAD	10 <sup>-5</sup>	89
Vitamin K <sub>3</sub>	10 <sup>-4</sup>	100
Ubichinon (O)	10 <sup>-4</sup>	100
Methylenblau	10 <sup>-5</sup>	44
Tetrahydrofolsäure	5 × 10 <sup>-4</sup>	100
Dihydrobiopterin	10 <sup>-4</sup>	100
Eisen-II-sulfat	10 <sup>-3</sup>	28
o-Phenanthrolin	10 <sup>-2</sup>	17

Die Reaktion wird durch Fe<sup>2+</sup>-komplexierende Reagenzien wie o-Phenanthrolin, KCN und EDTA gehemmt, so daß eine Aktivierung des Sauerstoffs als Perferrylion Fe<sup>3+</sup>O<sub>2</sub><sup>-</sup> anzunehmen naheliegt. An der Enzymoberfläche könnte dieses Ion dann sehr spezifisch die Elektronen des Substrats abstrahieren. Cytochrom P-450 ist an der O<sub>2</sub>-Aktivierung nicht beteiligt. Eine Dehydrogenase-Reaktion konnte ebenfalls ausgeschlossen werden.

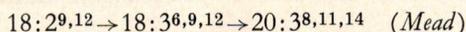
Wir schlossen auch die Möglichkeit aus, daß die Desaturierung z. B. der 20:3<sup>8,11,14</sup> als Acylkomponente im Molekülverband der Phospholipoide erfolgt. Lecithin, das durch Totalsynthese mit <sup>14</sup>C-20:3<sup>8,11,14</sup> in Stellung 2 markiert wurde,

blieb völlig unverändert, während parallel dazu inkubierte 20:3-Säure zur Arachidonsäure desaturiert wurde.

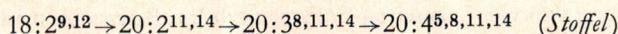
Das kettenverlängernde und das desaturierende (olefinierende) Enzym sind auf der endoplasmatischen Retikulum-Membran angeordnet. Beide Enzyme und damit die von ihnen katalysierten Reaktionen verlaufen also in der Zelle in engster Nachbarschaft. Darüberhinaus stellen sie unter Ausschaltung langer Diffusionswege die Substrate bereit für die Acyltransferasen, die an der Phospholipoid-Synthese beteiligt sind und auf die später noch eingegangen werden soll.

Zusammenfassend verlaufen also alternierend Kettenverlängerung und Desaturierung. Nehmen wir als Beispiel die Biosynthese der Arachidonsäure, so ergeben sich folgende Wege:

sowohl



als auch



## II. $\beta$ -Oxidation

Bernhard (3), Mead (4) u. a. haben schon früh aus Ganztierversuchen mit fettfrei ernährten Ratten geschlossen, daß markierte ungesättigte Fettsäuren offenbar wie gesättigte Fettsäuren sehr rasch abgebaut werden. Man kann dies sehr leicht mit isolierten Mitochondrien und [ $^{14}\text{C}$ ]-markierten gesättigten Mono- und Polyensäuren demonstrieren (Tab. 3).

Tab. 3. Fettsäureoxidation durch Mitochondrien der Rattenleber

Fettsäuren	[ $^{14}\text{C}$ ] mark. Fettsrn.	n mol Fettsäure oxidiert	
		ohne Carnitin	mit Carnitin
ges. Fettsäure	16:0	29	47
Ölsäuretyp	18:1 <sup>9</sup>	15,3	49
	18:2 <sup>6,9</sup>	40	53
	20:1 <sup>11</sup>	12,7	34
Linolsäuretyp	16:3 <sup>4,7,10</sup>	24	36
	18:2 <sup>9,12</sup>	37	57
	18:3 <sup>6,9,12</sup>	37	58
	20:3 <sup>8,11,14</sup>	15	43
	20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	29	43
Linolsäuretyp	18:3 <sup>9,12,15</sup>	59	95
$\gamma$ -Linolsäure	18:3 <sup>6,9,12</sup>	31	80

Aus Tabelle 3 geht ebenfalls der Einfluß des Carnitins auf die  $\beta$ -Oxidation hervor. Seine Funktion für den Transport durch die innere Mitochondrienmembran ist heute gesichert.

Man darf mit Recht annehmen, daß der Abbau der gesättigten Anteile von ungesättigten Fettsäuren nach dem von Lynen entwickelten  $\beta$ -Oxidationsschema

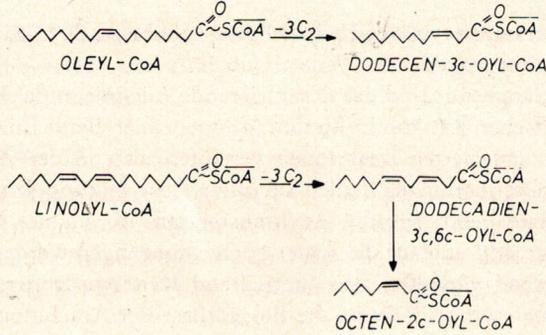


Abb. 5. cis-β, γ- und cis-α, β-Enoyl-CoA Intermediärprodukte im oxydativen Abbau der Öl- und Linolsäure.

unter Beteiligung von vier bekannten Enzymen erfolgt. Betrachtet man jedoch die Mono- und Polyenfettsäuren näher, so treten im Verlauf des Abbaus immer Intermediärprodukte mit β, γ-cis-Doppelbindungen auf, die von an ungeradzahigen C-Atomen befindlichen Doppelbindungen stammen. Intermediärprodukte mit α, β-cis-Doppelbindungen leiten sich immer von an geradzahigen C-Atomen befindlichen Doppelbindungen der jeweils abzubauenen Polyensäuren ab (Abb. 5).

Um die an β, γ- und α, β-cis-Enoyl-CoA Estern ablaufenden enzymatischen Reaktionen studieren zu können, synthetisierten wir die aus der Abbildung ersichtlichen Intermediärprodukte und stellten fest, daß bestimmte Mitochondrienfraktionen das β, γ-cis-Dodecenoyl-CoA zum entsprechenden 3-Hydroxylaurinsäure-

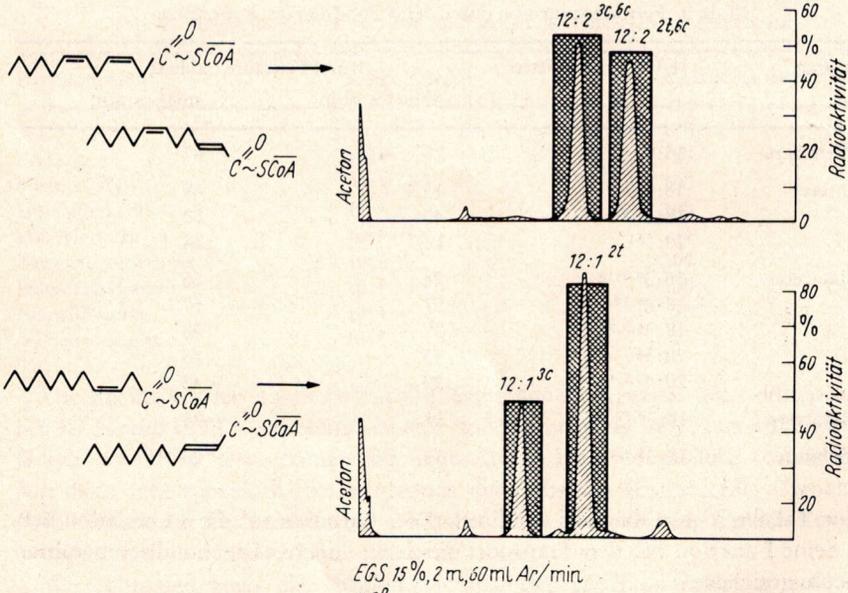


Abb. 6. Isomerisationsreaktion von 12:13<sup>c</sup>- und 12:23<sup>c,6c</sup>-CoA. Analyse der Methyl ester der Inkubationsgemische (1 μMol CoA-Ester, 1 μg Δ<sup>13c</sup>-Δ<sup>2t</sup>-Enoyl-CoA-Isomerase).

Coenzym A Ester umwandeln. An dieser Reaktion sind zwei Enzyme beteiligt, und zwar die  $\Delta^{3\text{cis}} - \Delta^{2\text{trans}}$ -Enoyl-CoA-Isomerase, ein relativ hitzestabiles Enzym, und die Enoyl-CoA-Hydrase (Crotonase). Durch wenige Enzymreinigungsschritte, von denen der Hitzeschritt die Hydrase quantitativ denaturiert, erhält man das Enzym fast 1000fach angereichert. Man kann die Umlagerung der Doppelbindung isoliert untersuchen. Die Analyse der Inkubationsansätze kann radio-gaschromatographisch erfolgen (Abb. 6), oder die Kinetik spektralphotometrisch an der Extinktionszunahme bei  $263\text{ m}\mu$  verfolgt werden (5). Diese wird durch die bei der Stellungsisomerisierung entstehenden  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Thioestergruppen bedingt (Abb. 7).

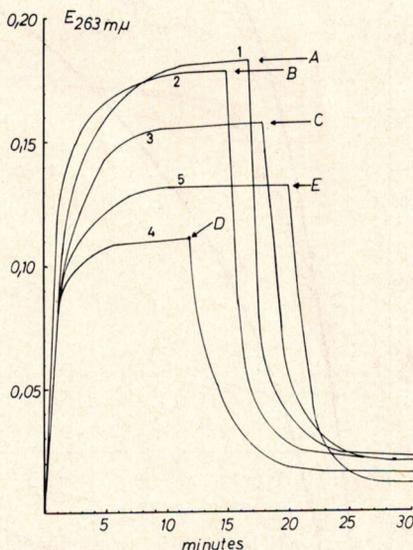


Abb. 7. Kinetiken der Isomerisation und Hydratisierung von

- 1  $12:1^3\text{c-CoA}$
- 2  $12:2^3\text{c},6\text{c-CoA}$
- 3  $9:1^3\text{c-CoA}$
- 4  $6:1^3\text{c-CoA}$
- 5  $16:1^3\text{c-CoA}$

Bei den Punkten A, B, C, D, E Zugabe von  $0,32\ \mu\text{g}$  krist. Crotonase.  
Gesamtvolumen:  $1,8\text{ ml}$ ;  $0,1\ \mu\text{Mol}$  Substrat,  $5\ \mu\text{Mol}$  EDTA,  $80\ \mu\text{Mol}$   
Phosphat-Puffer pH 7,4.

Die Isomerase katalysiert eine Stellungsisomerisierung von  $\beta, \gamma$  nach  $\alpha, \beta$ . Die überwiegende Mehrzahl der in der Natur vorkommenden Polyenfettsäuren besitzt all-cis-Doppelbindungssysteme. Die im Verlauf ihres Abbaus auftretenden  $\Delta^{3\text{cis}}$ -Enoyl-CoA Ester erfahren zusätzlich eine geometrische Isomerisierung von cis  $\rightarrow$  trans. Allerdings begegnen wir in der Natur auch trans-Säuren, z. B. der in den Chloroplastenlipoiden vorkommenden  $\Delta^{3\text{trans}}-16:1$ . Läßt man auf den Coenzym-A Ester dieser Säure die Isomerase einwirken, so erfolgt hier, wenn auch mit geringerer Geschwindigkeit, eine reine Stellungsisomerisierung zu  $16:12^{\text{trans}}$ -CoA und damit zu einem Intermediärprodukt der  $\beta$ -Oxidation der Palmitinsäure (Abb. 8).

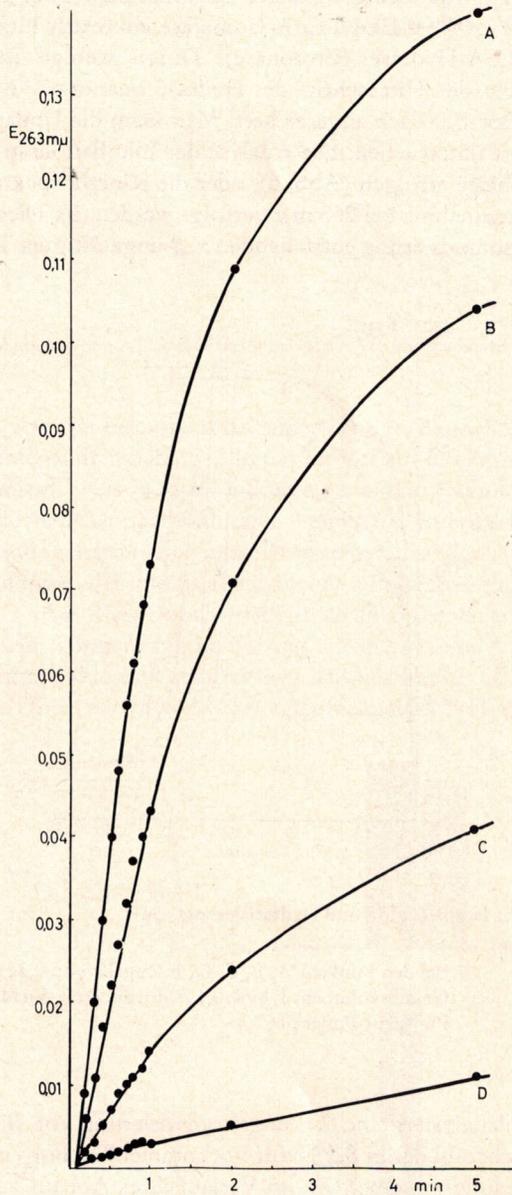


Abb. 8. Kinetik von 16:1<sup>3c</sup>-CoA und 16:1<sup>2t</sup>-CoA und Produkthemmung der Isomerase.

- A 0,15  $\mu$ Mol 16:1<sup>3c</sup>-CoA ohne 16:1<sup>2t</sup>-CoA  
 B 0,15  $\mu$ Mol 16:1<sup>3c</sup>-CoA + 0,12  $\mu$ Mol 16:1<sup>2t</sup>-CoA  
 C 0,15  $\mu$ Mol 16:1<sup>3c</sup>-CoA ohne 16:1<sup>2t</sup>-CoA  
 D 0,15  $\mu$ Mol 16:1<sup>3c</sup>-CoA + 0,12  $\mu$ Mol 16:1<sup>2t</sup>-CoA  
 100  $\mu$ g Serumalbumin, 30  $\mu$ g Enzymprotein

Unsere mitochondrialen  $\beta$ -Oxidations-Enzyme entheben uns also der Sorge um den Abbau der bei der Härtung pflanzlicher Fette entstehenden trans-Säuren.

Aus einer Vielzahl von weiteren Untersuchungen, Hemmversuchen,  $^3\text{H}$ -Austausch-Experimenten und Photooxidationsversuchen, von denen nur Versuche mit dem in der (Abb. 9) gegebenen Histidinblocker erwähnt werden sollen, leiten wir unsere Annahme ab, daß nach dem in der (Abb. 10) gezeigten Mechanismus ein H-Transport intramolekular von  $\text{C}_2$  nach  $\text{C}_4$  erfolgt und daß an dieser Reaktion Histidin beteiligt ist.

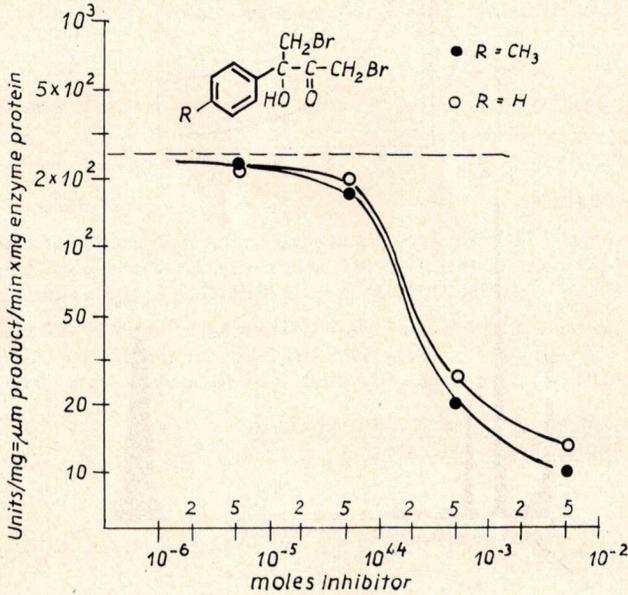


Abb. 9. Wirkung von Histidin-Blockern. 0,06  $\mu\text{Mol}$  16: $^{13}\text{C}$ -CoA, 20  $\mu\text{g}$  Enzymprotein, 100  $\mu\text{Mol}$  Kaliumphosphat-Puffer pH 7,4. Gesamtvolumen: 2,0 ml, Vorinkubation des Enzyms mit Blocker über 4 Stunden, 12 Stunden Dialyse.

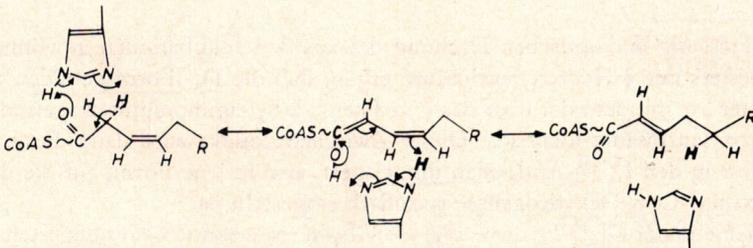


Abb. 10. Intramolekulare Wasserstoffverschiebung an cis- $\beta$ - $\gamma$ Enoyl-CoA Estern durch die  $\Delta^3$ cis- $\Delta^2$ trans-Enoyl-CoA-Isomerase

Ganz anders verläuft die Umwandlung der  $\alpha, \beta$ -cis-Enoyl-CoA Intermediärprodukte. Sie werden zunächst an der Hydrase zu 3-Hydroxyacyl-CoA hydratisiert (Abb. 11).

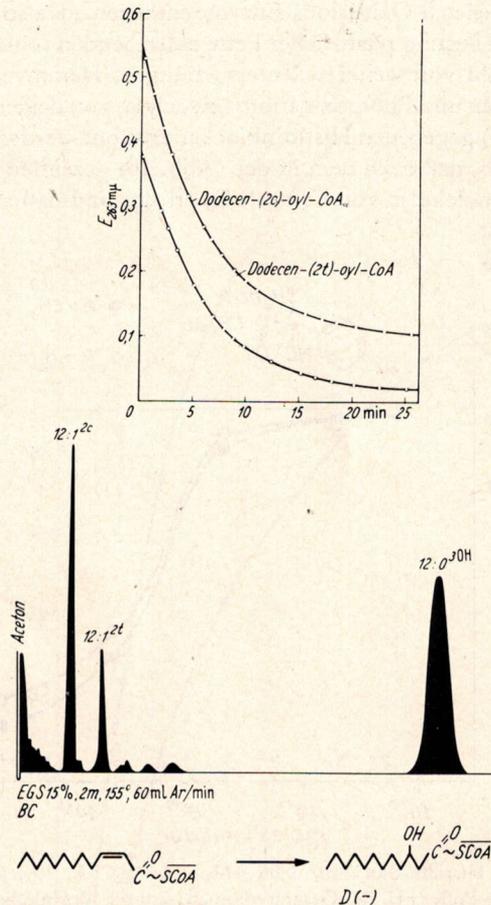


Abb. 11. Hydratisierung von  $\Delta^{20}$ -Dodecenoyl-CoA durch Enoyl-CoA-Hydratase.

Die Messung der optischen Drehung des aus den Inkubationen gewonnenen Methylesters der 3-Hydroxylaurinsäure ergab, daß die D(-)Form gebildet wird. Der Ester ist mit dem der über das (-)- $\alpha$ -Phenyl-äthyl-ammoniumsalz getrennten 3-Hydroxylaurinsäure identisch. Dieses Zwischenprodukt wird dann durch eine *Epimerase* in den L(+)-Antipoden umgelagert, also in jene Form, auf die die  $\beta$ -Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase spezifisch eingestellt ist.

Die Kinetik der D(-)-3-Hydroxyacyl-CoA-Epimerase kann im kombinierten Test demonstriert werden (Abb. 12, 13).

Die beiden für den Abbau der ungesättigten Säure erforderlichen Enzyme sind zusammen mit den anderen  $\beta$ -Oxidationsenzymen auf der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert<sup>6</sup>. Sie kommen ubiquitär vor, nicht nur in Leber, Niere, Herz, Gehirn, auch in Pilzen und liegen fernerhin als induzierbare Enzyme in Bakterien, z.B. *E. coli*, vor. Abb. 14 gibt die  $\beta$ -Oxidationsspirale in ihrer erweiterten Form

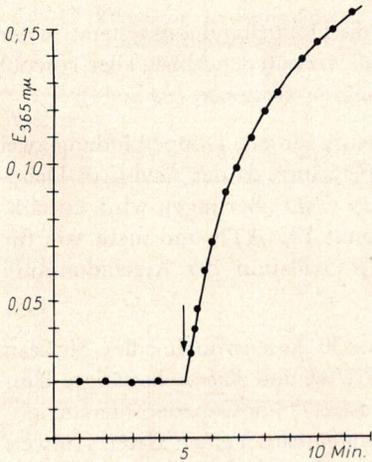


Abb. 12

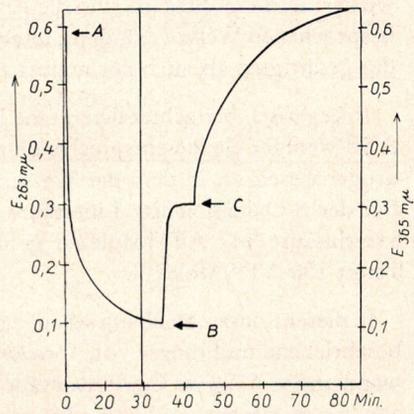


Abb. 13

Abb. 12. Kinetik der Epimerisierung und Dehydrogenierung von D(-) 3-Hydroxyacyl-CoA  
 ↓ Zugabe von 3-Hydroxyacyl-CoA-3-Epimerase (150 Einheiten) 0,2 μMol D (-) 12:0<sup>3</sup>H-CoA,  
 150 μMol Tris-Puffer pH 9,5, 5 μMol EDTA, 0,6 μMol NAD<sup>+</sup>, 40 μg L (+) HOADH.

Abb. 13. Kinetik der Hydratisierung von 12:1<sup>3c</sup>-CoA und Epimerisierung des Reaktionsproduktes.  
 0,2 μMol 12:1<sup>3c</sup>-CoA in 150 μMol Tris-Puffer pH 9,0, 5 μMol EDTA.  
 A: Zugabe von 0,3 μg Crotonase, B: 0,6 μMol NAD<sup>+</sup> und 40 μg L (+) HOADH, C: 45 μg  
 Epimerase.

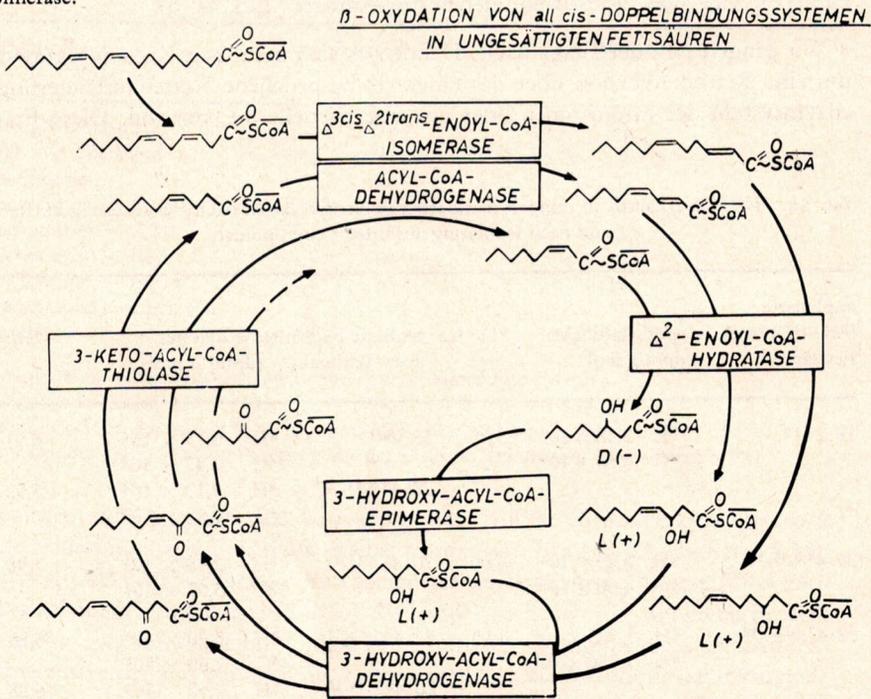


Abb. 14. β-Oxidationszyklus für gesättigte und ungesättigte Fettsäuren.

wieder. In dieses Schema sind die Enzyme, die die Doppelbindungssysteme in der besprochenen Weise verändern, integriert, so daß wir nun den Abbau aller, sowohl der gesättigten als auch der ungesättigten Fettsäuren verstehen (Abb. 14).

Energetisch betrachtet liefert eine Polyenfettsäure für jede Doppelbindung zwei ATP weniger als die entsprechende gesättigte Fettsäure, da der Acyl-CoA-Dehydrogenaseschritt, in dem der Wasserstoff auf das FAD übertragen wird, entfällt. Bei der  $\beta$ -Oxidation der Linolsäure werden somit 143 ATP und nicht wie für Stearinsäure 147 ATP/Molekül gebildet. Die  $\beta$ -Oxidation der Arachidonsäure liefert 156 ATP/Molekül.

In diesem Zusammenhang sei auf eine schon vor 30 Jahren von Smedley-McLean beschriebene und jüngst von *Sprecher, Privett, Schlenk* und *Kubnau* bestätigte Umwandlung von  $C_{22}$ - zu  $C_{20}$ -Polyensäuren hingewiesen (7). Die Ganztieruntersuchungen mit markierten und unmarkierten Verbindungen hatten einen klaren Hinweis gegeben, daß  $C_{22}$ -Polyensäuren zu den entsprechenden  $C_{20}$ -Polyensäuren verkürzt werden. Auf der anderen Seite hatten wir schon vor mehreren Jahren mit Hilfe von  $^3H$ - und  $^{14}C$ -doppeltmarkierter Linol- und Arachidonsäure zeigen können, daß diese beiden Säuren nicht zu um zwei Kohlenstoffatome verkürzten homologen Säuren umgewandelt werden. Wir überprüften daher erneut den Stoffwechselweg von [ $^3H$ ;  $^{14}C$ ] 18:2 und 20:4 und bezogen die 22:47,10,13,16 Säure in diese Untersuchungen ein. Die Ergebnisse waren eindeutig: Nur die 22:4 wurde zu 20:4 verkürzt, die  $C_{18}$ - und  $C_{20}$ -Säuren blieben unverändert (Tab. 4a, b).

Wir gingen nun der Frage nach: Handelt es sich bei dieser Kettenverkürzung um eine Retroconversion über das eingangs besprochene Kettenverlängerungsenzymsystem der Microsomen oder um eine partielle  $\beta$ -Oxidation. Diese Frage

Tab. 4a.  $^3H/^{14}C$  Verhältnis in doppelt markierten Polyenfettsäuren nach Verfütterung an Ratten und nach Isolierung aus ihren Leberlipoiden

applizierte [ $^3H$ ; $^{14}C$ ] mark. Fettsäure	spez. Radioakt. dpm/ $\mu$ mol	$^3H/^{14}C$	isolierte Fettsäuremethylester spez. Radioakt. (dpm/ $\mu$ mol)	$^3H/^{14}C$	
18:2 <sup>9,12</sup>	$^3H$ $2,10 \times 10^6$	5,90	18:2 <sup>9,12</sup>	$^3H$ $8,75 \times 10^4$	5,91
	$^{14}C$ $3,56 \times 10^5$			$^{14}C$ $1,47 \times 10^4$	
20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	$^3H$ $3,20 \times 10^6$	8,00	20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	$^3H$ $1,18 \times 10^4$	5,92
	$^{14}C$ $4,00 \times 10^5$			$^{14}C$ $2,00 \times 10^3$	
22:47,10,13,16	$^3H$ $1,225 \times 10^6$	6,85	22:47,10,13,16	$^3H$ $5,20 \times 10^4$	6,85
	$^{14}C$ $1,750 \times 10^5$			$^{14}C$ $7,60 \times 10^3$	
			20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	$^3H$ $2,62 \times 10^4$	6,88
				$^{14}C$ $3,80 \times 10^3$	

Tab. 4b. Verteilung der Radioaktivität in den Fettsäuren des Gesamtlipoidextraktes nach intravenöser Applikation von [ $3-^{14}\text{C}$ ] markierter 18:2<sup>9,12</sup>-, 20:2<sup>11,13</sup>-, 20:3<sup>8,11,14</sup>-, 20:4<sup>5,8,11,14</sup>-, 22:3<sup>10,13,16</sup>- und 22:4<sup>7,10,13,16</sup>-Fettsäure

Applizierte Fettsäure	Gesamtradioaktivität in % in							
	16:2	18:2	18:3	20:2	20:3	20:4	22:3	22:4
18:2	—	100	—	—	—	—	—	—
20:2	—	0,1	—	26,4	20,5	40,9	—	—
20:3	—	—	0,1	—	29,1	47,9	—	—
20:4	—	—	—	—	—	100	—	—
22:3	—	—	—	—	18,7	54,3	15,4	—
22:4	—	—	—	—	—	44	—	56

ließ sich durch Zellfraktionierung und Inkubation der 22:4 oder 22:3 Säure mit den subzellulären Fraktionen abklären. Tab. 5 zeigt eindeutig, daß die Retroconversion der 22:4 zur Arachidonsäure oder der 22:3 zur Homo- $\gamma$ -Linolensäure an die mitochondriale Fraktion gebunden ist. Eine Rückreaktion über das mikrosomale Kettenverlängerungsenzym scheidet aus. Es handelt sich vielmehr um eine partielle  $\beta$ -Oxidation. Der Beweis ist der folgende: Trennt man die Mitochondrien in ihre äußere und innere Membran und die Matrixfraktion nach der Methode von

Tab. 5. Umwandlung von [ $3-^{14}\text{C}$ ] 22:3<sup>10,13,16</sup>- und [ $3-^{14}\text{C}$ ;  $^3\text{H}_8$ ] 22:4<sup>7,10,13,16</sup>- in 20:3<sup>8,11,14</sup>- und 20:4<sup>5,8,11,14</sup>-Fettsäuren durch subzelluläre Fraktionen aus Rattenleber

Zellfraktionen	gebildete 20:3 <sup>8,11,14</sup>		20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	
	%		%	
500 $\times$ g Überstand	18	21		
10000 $\times$ g Überstand	12	9		
Mitochondrien	26	26		
Mitochondrien + Carnitin (3 $\mu$ mol)	35	44		
Mitochondrien - ATP	3	1,4		
Mitochondrien - CoA	20	12		
Mitochondrien - NAD <sup>+</sup>	36	31		
Mitochondrien beschallt (60'')	1,8	3		
Mikrosomen	0,5	6		

Jeder Inkubationsansatz enthielt in einem Gesamtvolumen von 2,0 ml:

0,5  $\mu$  mol [ $3-^{14}\text{C}$ ] 22:3<sup>10,13,16</sup>- oder [ $3-^{14}\text{C}$ ;  $^3\text{H}_8$ ] 22:4<sup>7,10,13,16</sup>-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>,

0,5  $\mu$  mol CoASH, 1  $\mu$  mol NAD<sup>+</sup>, 10  $\mu$  mol ATP, 10  $\mu$  mol MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$  mol

Phosphatpuffer pH 7,4, 10 mg Protein von jeder Fraktion, Inkubation 1 Stunde bei 37 °C.

Schnaitman oder Sottocasa auf, so erkennt man, daß die Kettenverkürzung sowie die  $\beta$ -Oxidationsenzyme, und als solche wurden die Enoyl-CoA-Hydrase,  $\beta$ -Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase und Isomerase getestet, an die innere Mitochondrienmembran gebunden sind (Tab. 6). Es handelt sich also hier um einen Prozeß, in dem der C<sub>22</sub>-CoA Ester nur einmal den Multienzymkomplex der  $\beta$ -Oxidationsenzyme abstreicht und bei dann der Kettenlänge C<sub>20</sub> wieder vom Enzymkomplex abdissoziiert. Da die C<sub>18</sub>- und C<sub>20</sub>-Polyensäuren, und als solche haben wir die

[<sup>3</sup>H] 20:2<sup>11,14</sup>, 20:3<sup>8,11,14</sup> und 20:4<sup>5,8,11,14</sup> getestet, auch keinen Austausch der terminalen C-Atome in Gegenwart von [<sup>14</sup>C] Acetyl- oder [<sup>14</sup>C] Malonyl-CoA aufweisen, muß eine äußerst kettenlängenspezifische Reaktion angenommen werden.

Tab. 6. Rückverwandlung von markiertem 22:4<sup>7,10,13,16</sup>-Coezym A-Ester aus submitochondrialen Fraktionen aus Rattenleber

Proteinfractionen	+ ATP/Mg <sup>++</sup>		- ATP/Mg <sup>++</sup>	
	n mol	%	n mol	%
Mitochondrien	51	100	45,4	100
äußere Membran	6,9	13,5	5,4	11,9
innere Membran + Matrix	55,1	108	54,0	119
innere Membran	57,8	113	60,1	132
Matrix	4,1	8	—	—

Jeder Inkubationsansatz enthielt in einem Gesamtvolumen von 7,5 ml: 0,1  $\mu$  mol [<sup>3-14</sup>C; <sup>3</sup>H<sub>8</sub>] 22:4<sup>7,10,13,16</sup>-CoA, 0,1  $\mu$  mol NAD<sup>+</sup>, 1 mg Rinderserumalbumin, 250  $\mu$  mol Phosphatpuffer pH 7,4, 2 mg Protein, 0,5  $\mu$  mol ATP und 0,5  $\mu$  mol Mg<sup>++</sup> wie angegeben. Inkubation 90 Minuten bei 37 °C.

Führt man den partiellen Abbau in Gegenwart von Dihydroxyacetonphosphat oder 3-Glycerophosphat durch, so werden Substrat, C<sub>22</sub>-Polyensäure, und Produkt, C<sub>20</sub>-Polyensäure, vollständig auf diese für die Phospholipidsynthese erforderlichen Akzeptormoleküle übertragen (Tab. 7).

Tab. 7. Partieller Abbau von C<sub>22</sub>-Polyenfettsäuren in Gegenwart von Dihydroxyaceton-Phosphat und 3-Glycerophosphat

Akzeptor <sup>+</sup>	ATP/Mg <sup>++</sup>	Radioaktives Produkt	Abbau in %
DAP	+	PS	41,1
DAP	—	FFS	45,7
3-GP	+	PS	43,1
3-GP	—	FFS	39,5
—	+	FFS	33,2
—	—	FFS	39,4

PS = Phosphatidsäure, DAP = Dihydroxyaceton-Phosphat, 3-GP = 3-Glycerophosphat, FFS = freie Fettsäure

Wir haben in großen Zügen den *Stoffwechsel* der Polyensäuren kennengelernt. Was wissen wir über ihre Funktion? Neben ihrer Precursorfunktion für die Prostaglandine, über die Herr *Bergström* sprechen wird, liegen sie vorwiegend als Acylgruppen der Phospholipide vor und sind als solche Bausteine aller Membranen der tierischen Zellen. Der Syntheseweg der Phospholipide wurde durch *Kennedy* (8) erarbeitet und darf als bekannt vorausgesetzt werden (Abb. 15).

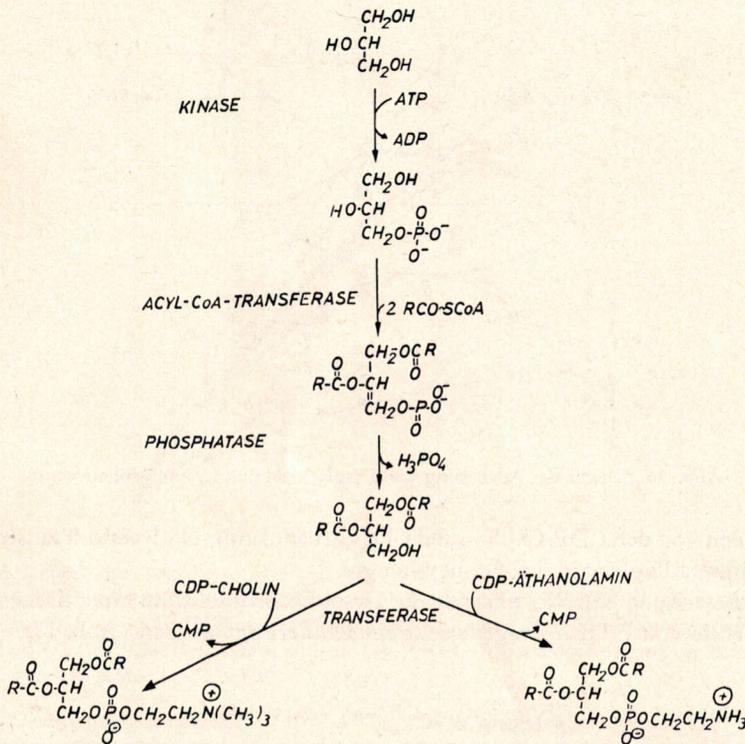


Abb. 15. Biosynthese-Schema der Phospholipide.

Das *Kennedysche* Syntheschema läßt die sehr wichtige Frage unbeantwortet: Wie kommt es zu der charakteristischen Verteilung der Polyenfettsäuren bevorzugt in Stellung 2 und der gesättigten Säuren in Stellung 1 des 3-Glycerinphosphats? Es muß betont werden: bevorzugt, nicht ausschließlich.

In verschiedenen Arbeitskreisen, vor allem in dem von *Lands* (9), *van Deenen* (10) und meinem eigenen (11, 12) wurden und werden Reaktionen, die zu der asymmetrischen Fettsäure-Verteilung führen, untersucht.

Wir betrachten dieses Problem unter folgenden drei Fragestellungen:

1. Erfolgt die Übertragung der Acylgruppe auf die Stellung 2 des 3-Glycerinphosphats unter Bildung der Phosphatidsäure durch eine Transacylase die spezifisch auf ungesättigte Säuren eingestellt ist? Diese Frage untersuchten wir mit dem Akzeptor Lysophosphatidsäure, die Palmitinsäure in Stellung 1 trägt. Das Problem wurde damit auf den zweiten Acylierungsschritt eingeeengt (Abb. 16).
2. Erfolgt eine Umstrukturierung des Phosphatidmoleküls durch eine De- und Reacylierungsreaktion durch konzertierte Aktion von Phospholipasen  $A_1$  und  $A_2$  und Acyl-CoA-Lysophosphatid-Transferase?

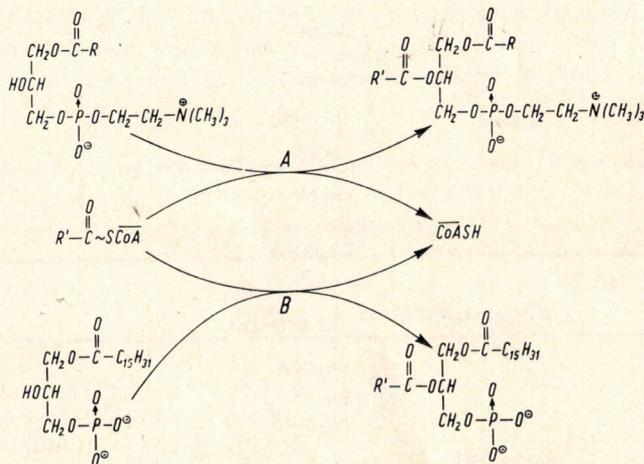


Abb. 16. Schema der Acylierung von Lysolecithin und Lysophosphatidsäure.

3. Werden von den CDP-Cholin- und CDP-Äthanolamin-Diglycerid-Transferasen bestimmte Diglycerid-Species bevorzugt?

Die Acylierung und Reacylierung der Lysophosphatide kann im optischen Test mit Hilfe von Ellman-Reagenz sehr einfach verfolgt werden (Abb. 17).

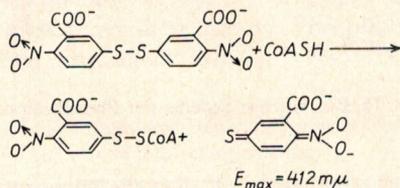


Abb. 17. Reaktion des Ellman-Reagenzes mit in der Transacylase-Reaktion freigesetztem Coenzym A.

Verwendet man radioaktive Acyl-CoA Ester als Substrate, so können die Reaktionsprodukte durch Radiodünnschichtchromatographie quantitativ erfaßt werden. Mit beiden Methoden haben wir die Kinetik der Acyl-Transferase Reaktion mit einer Reihe von gesättigten Mono- und Polyensäure-CoA Estern verglichen.

Wohl am eindeutigsten können wir heute zu Punkt 2 Aussagen machen. Dieser von Lands zuerst beschriebene und auch von uns untersuchte De- und Reacylierungsmechanismus ist vor allem für die Dynamik der Lipoidphase der Membran von großer Bedeutung. Phospholipase A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> sind sowohl in der Lysosomen-, Mitochondrien-, Microsomen- und der Überstandsfraktion der Leberzelle vorhanden (13).

Die Transferase für die Lysophosphatide läßt eine sehr deutliche Spezifität für Polyensäuren erkennen. Auch die Länge der Kohlenstoffkette der Polyensäure übt einen beträchtlichen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit aus (vergl. 16: 34,7,10 und 18: 36,9,12 bzw. 20: 38,11,14 in Abb. 18).

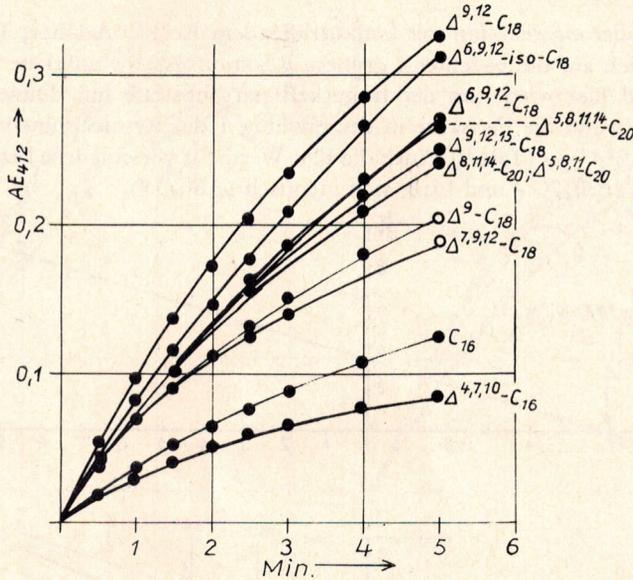


Abb. 18. Kinetik der Acylierung von Lysolecithin mit radioaktiv markierten Fettsäure-CoA-Estern. Jede Küvette enthält in einem Gesamtvolumen von 2 ml: 1  $\mu$ Mol Ellman-Reagens; 0,1  $\mu$ Mol Acyl-CoA; 100  $\mu$ Mol Kaliumphosphatpuffer, pH 7,4 und 2 mg Mikrosomenprotein (Vorinkubation mit DFP). Die Leerküvette enthält kein Acyl-CoA. Start der Reaktion zur Zeit 0 durch Zugabe von 0,25  $\mu$ Mol Lysolecithin.

Tab. 8. Gesättigtes Lysolecithin

Fettsäurekombination	Einbau nMol Fettsäure	Molares Verhältnis der eingebauten Fettsrn.
C <sub>16</sub>	14,8	1/4,3
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	63,7	
C <sub>16</sub>	24,5	1/5,6
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	136,5	
C <sub>16</sub>	12,5	1/12,7
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	159	
C <sub>16</sub>	27,4	1/4,3
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	116	
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	20,6	1/6
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	123	
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	44,4	1/2,5
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	110	
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	15	1/9,5
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	143	
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	165	1/0,4
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	73	
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	60	1/1,3
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	80	
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	65	1/1,6
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	104	

Tab. 9. Ungesättigtes Lysolecithin

Fettsäurekombination	Einbau nMol Fettsäure	Molares Verhältnis der eingebauten Fettsrn.
C <sub>16</sub>	8,8	1/7,8
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	68,7	
C <sub>16</sub>	7,6	1/27,5
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	204	
C <sub>16</sub>	10	1/20
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	201	
C <sub>16</sub>	10	1/14,6
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	146	
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	25,8	1/6,8
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	174	
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	52	1/2,6
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	133	
$\Delta^9$ -C <sub>18</sub>	45	1/2,8
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	124	
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	155	1/0,5
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	83	
$\Delta^{9,12}$ -C <sub>18</sub>	94	1/1,1
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	100	
$\Delta^{5,8,11}$ -C <sub>20</sub>	76	1/1,8
$\Delta^{5,8,11,14}$ -C <sub>20</sub>	133	

Die Acylierungsreaktion mit konkurrierendem Acyl-CoA-Ester, Tab. 8, weist sehr deutlich auf die bedeutend größere Reaktionsgeschwindigkeit von Polyensäuren und hier wiederum der länger-kettigen Substrate hin. Diese wird noch gesteigert, wenn die Fettsäure in der Stellung 1 des Lysolecithins ungesättigter Natur (18:2<sup>9,12</sup>) ist (Tab. 9). Auch die  $K_m$ -Werte für verschiedene Fettsäure-CoA-Ester, z. B. 16:0, 20:4 und 16:3, sind identisch (Abb. 19).

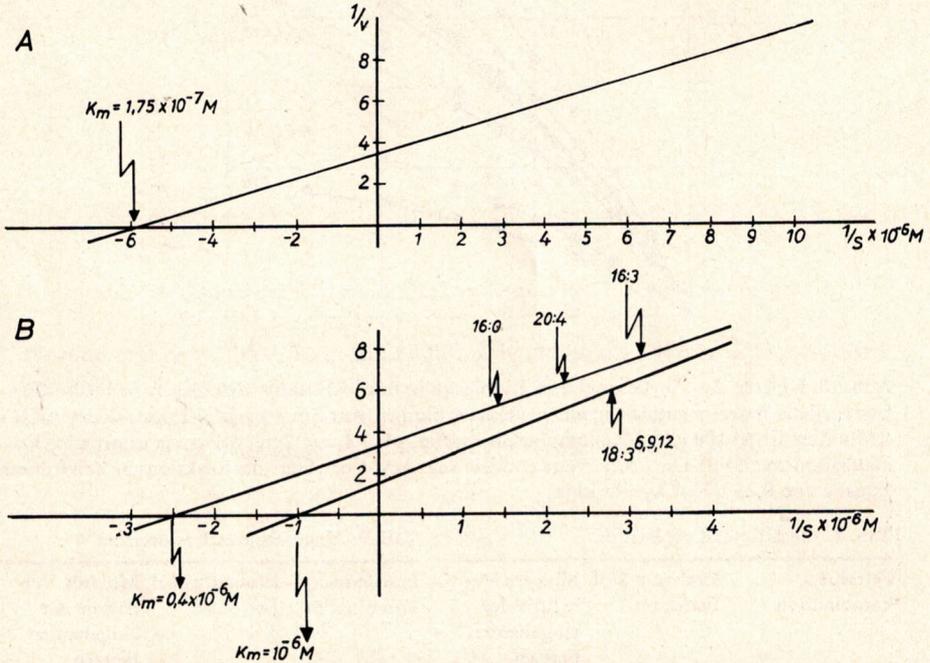


Abb. 19.  $K_m$ -Bestimmung von (A) 1-Palmitoyl-3-glycerophosphat mit 20:4<sup>5,8,11,14</sup>-CoA. B: verschiedene Fettsäure-CoA-Ester mit 1-Palmitoyl-3-glycerophosphat.

Mit Lysophosphatidsäure (1-Palmitoyl-3-glycerophosphat) als Akzeptor beobachtet man für alle Acylgruppen sehr verwandte Kinetiken mit den einzelnen Fettsäuren und ebenfalls weitgehend im kompetitiven Experiment, wenn z. B. zwei verschiedene Acyl-CoA-Ester der Transferase angeboten werden (Abb. 20). Unsere *in vitro* Versuche lassen auf der Stufe des zweiten Acylierungsschritts keine Spezifität erkennen.

Im Gegensatz dazu stehen die Kurzzeitversuche von Elovson (14) et al., die intraportal Palmitin- bzw. Linolsäure injizierten. Sie fanden die Palmitinsäure vorwiegend in Stellung 1, die Linolsäure in Stellung 2 der Phosphatidsäure bzw. Diglyceride eingebaut. Die Autoren behaupten, daß hingegen die Stearoyl-Linoly-Species sowie die Triensäure- und Tetraensäure (Arachidonsäure)-haltigen Species überhaupt nur über die Reacylierung von Lysophosphatidyl-cholin bzw. -äthanolamin in Phospholipoide entstehen. Die Palmitoyl-Linoyl-Species sollen durch de novo Synthese aufgebaut werden, nicht hingegen die Stearoyl-Linoyl-Species, was eine ungeheure Selektivität bedeuten würde.

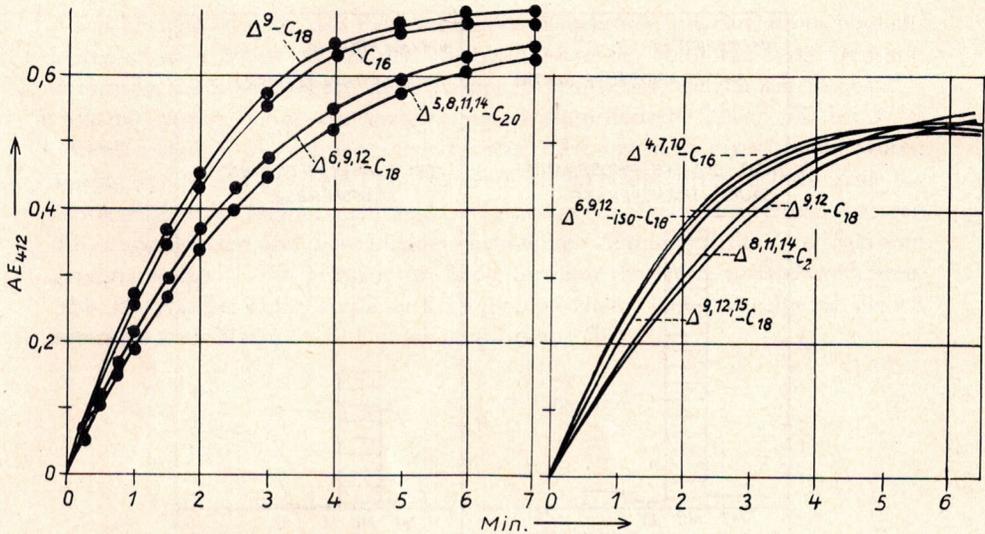


Abb. 20. Kinetik der Acylierung von 1-Palmitoyl-L-glycerin-3-phosphat mit radioaktiv markierten Fettsäure-CoA-Estern. Jede Küvette enthielt in einem Gesamtvolumen von 2 ml: 1  $\mu$ Mol Ellman-Reagenz; 0,1  $\mu$ Mol Acyl-CoA; 100  $\mu$ Mol Kaliumphosphatpuffer, pH 7,4 und 2 mg Mikrosomenprotein (Vorinkubation mit DFP). Die Leerküvette enthielt kein Acyl-CoA. Start der Reaktion zur Zeit 0 durch Zugabe von 0,25  $\mu$ Mol Lysophosphatidssäure.

Es stehen sich hier Aussagen, wie wir sie aus *in vitro*-Untersuchungen abgeleitet haben, mit solchen die auf *in vivo* Versuchen basieren, gegenüber. Es ist also ersichtlich, daß das Problem der Synthese von bestimmten Lecithin- und Kephalin-Species als noch nicht gelöst betrachtet werden muß. Die CDP-Cholin-Diglycerid-Transferase weist keine unterschiedlichen Kinetiken mit Diglyceriden von unterschiedlicher Zahl an *cis*-olefinischen Bindungen auf (15).

Alle aufgeführten Transferase-Reaktionen laufen ebenso wie die eingangs beschriebene Polyenfettsäure-Biosynthese an Enzymkomplexen der Membranen des endoplasmatischen Retikulums ab (Abb. 21). Ausgenommen die Substrate der ersten Reaktion in der Phospholipoid-Synthese, das 3-Glycerinphosphat und z. B. Palmitoyl-CoA, die beide aus der löslichen Cytoplasma-Fraktion an das Enzym heran diffundieren, sind alle übrigen Zwischenprodukte der Phospholipoid-Synthese wasserunlösliche Substrate. Wegen der gleichen Kompartimentalisierung der Enzyme bestehen für die Intermediärprodukte somit kleinste Diffusionswege, für die zudem die Lipoid-Phase als ideales Lösungsmittel dieser Membranen des endoplasmatischen Retikulums (ER) zur Verfügung steht. Es besteht wohl kein Zweifel, daß von allen Fettsäuren Palmitoyl-CoA und Stearoyl-CoA in der höchsten Konzentration im Cytoplasma gelöst vorkommen. Nehmen wir zwei Enzyme mit je einer Spezifität für die Acylierung der Stellungen 1 und 2 des Glycerophosphats, nicht aber für bestimmte Fettsäuren, an, so kann die asymmetrische Verteilung von ungesättigten und gesättigten Fettsäuren in der Phosphatidssäure so zustande kommen, daß die aktuellen Konzentrationen entscheidend

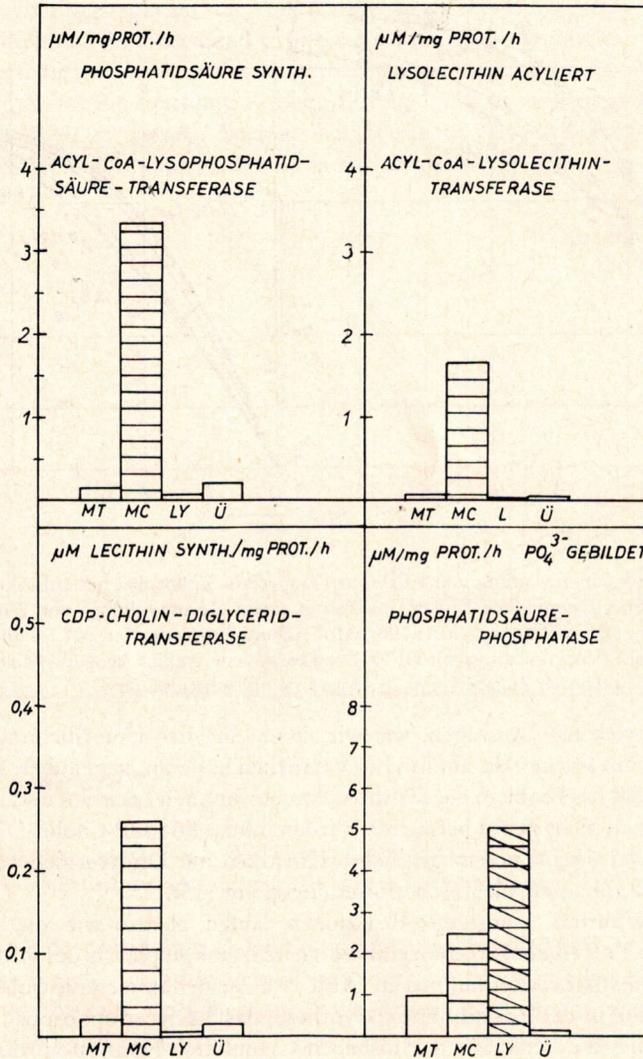


Abb. 21. Verteilung einiger an der Phospholipidsynthese beteiligter Enzyme in den subzellulären Fraktionen der Rattenleber.

werden und zwar die des von der cytoplasmatischen Fettsäure-Synthetase gebildeten Palmitoyl-CoA-Esters und des 3-Glycerophosphats, während die aktuelle Konzentration der in der ER-Membran gebildeten Polyensäuren dort für die zweite Acylierung am höchsten ist. Hinzu kommt noch, daß die Lipoidphase der Lipoproteide der ER-Membran bei 37°C in flüssigem Zustand vorliegt, und damit für die gleichfalls nicht kristallinen Alkenketten der langkettigen ungesättigten Acyl-CoA-Ester ein ideales Lösungsmittel darstellt.

Ich bin mir bewußt, daß dies nur eine von mehreren Interpretationsmöglichkeiten darstellt. Es ist ein Versuch, die Lipoidphase der Membran in die Deutung enzymatischer koordinierter, mehrstufiger Enzym-Reaktionen einzubeziehen.

Damit kämen wir zu der letzten Frage, warum tierische Zellen, die bei 37°C optimal gedeihen, Phospholipoide mit einfach oder mehrfach ungesättigten Säuren benötigen. Ich möchte diese Frage ganz einfach so beantworten, daß die Zelle die Lipoidphase ihrer Membranen, sehen wir einmal vom Myelin ab, in einem flüssigen d. h. ungeordneten und nicht in einem kristallinen Zustand erhält. Zwei Faktoren garantieren das: 1. die Temperatur, 2. die Struktur der Kohlenwasserstoffketten. Abb. 22. Was berechtigt zu dieser Behauptung? Hierzu einige Ergebnisse, die ich zusammen mit Herrn *Overath* durchgeführt habe (16).

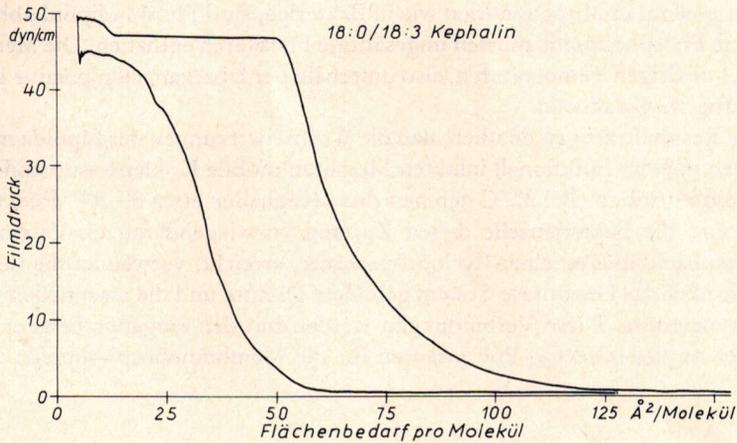


Abb. 22. F/A-Isotherme von 18:0/18:3-Phosphatidyläthanolamin. Kompressionsgeschwindigkeit: 125 Å<sup>2</sup>/Molekül/Min. Temperatur 35°C.

Man kann Doppelmutanten von *E. coli*, die weder ungesättigte Fettsäuren synthetisieren noch abbauen können, mit einfachen Selektionierungsmethoden erhalten. Diese Mutanten sind auxotroph und bauen die ihnen im Medium angebotenen Fettsäuren in das Phosphatidyläthanolamin der cytoplasmatischen Bakterien-Membran ein. Man kann nun die Temperatur-Charakteristiken einiger membrangebundener Funktionen, z. B. des Zellwachstums, der Atmung und des Thiomethyl-galactosid-Transports durch diese Membran vergleichen mit den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Kephaline in diesen Membranen, die von Zellen, denen im Medium Öl-, Elaidin-, Lactobacillin-, Linol- und Linolensäure angeboten wurden, isoliert wurden. Mißt man die Isothermen der verschiedenen Kephaline bei verschiedenen Temperaturen, so ist aus der Tab. 10 ersichtlich, daß der Thiomethyl-galactosid-Ausfluß aus der Zelle, das Wachstum oder die Atmung bei der Temperatur zum Erliegen kommen, bei der der Filmzustand des betreffenden Kephalins einen Phasenübergang vom flüssigen in den kondensierten, d. h. kristallinen Zustand durchläuft.

Tab. 10. Wechselbeziehung der Phasenübergänge in vivo und in vitro

	in Phospholipide eingebaute Fettsäuren			
	18:3	19:0	trans-18:1	cis-18:1
Wachstum	—	22°C	37°C	—
Atmung	—	—	36°C	10°C
Efflux von <sup>14</sup> C-Thiomethyl-β-D-galaktosid	6°C	10°C	38°C	15°C
Auftreten der Phasenübergänge in monomolekularen Filmen	4°C	10°C	41°C	15°C

Die Fettsäure dient nur in flüssigem Zustand als Wachstumsfaktor. Atmungsenzyme, sowohl in Mitochondrien wie in Bakterien, sind Phospholipoid-abhängig und diese Phospholipide müssen ungesättigte Fettsäuren enthalten. Die Membran wird bei niedrigen Temperaturen, also unterhalb der Übergangstemperatur impermeabel für das Galaktosid.

Diese Resultate zeugen deutlich, daß die Wechselwirkungen der Lipide mit den Proteinen in einer funktionell intakten Membran mobile Kohlenwasserstoffketten im Lipoid erfordern. Bei 37°C nehmen diese Kepheline etwa 50 Å<sup>2</sup>/Molekül ein.

Während die Bakterienzelle diesen Zustand vorwiegend mit cis-Vaccensäure und Lactobacillinsäure, einer Cyclopropansäure, erreicht, verwendet die tierische Zelle die über das Desaturase-System gebildete Ölsäure und die essentiellen Linol- und Linolensäure. Diese Verbindungen werden mit den eingangs besprochenen Enzymen zu C<sub>20</sub>- und C<sub>22</sub>-Polyensäuren für die Membranphospholipide umgebaut.

#### Literatur

1. *W. Stoffel*, Naturwiss. **53**, 621 (1966) Zusammenfassung der Arbeiten bis 1965. — 2. *D. K. Bloomfield und K. Bloch*, J. Biol. Chem. **235**, 337 (1960). — 3. *K. Bernhard, M. Rothlin, J. P. Vuilleumier und R. Wäss*, Helv. Chim. Acta **41**, 1017 (1958). — 4. *J. F. Mead, W. H. Slaton und A. B. Decker*, J. Biol. Chem. **218**, 401 (1956). — 5. *W. Seubert und F. Lynen*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 2787 (1955). — 6. *W. Stoffel und W. Ecker*, unveröffentlicht. — 7. Zusammenfassung siehe *W. Stoffel, W. Ecker, H. Assad und H. Sprecher*, Z. physiol. Chem. **351**, 1545 (1970). — 8. *E. P. Kennedy*, Fed. Proc. **20**, 934 (1961). — 9. *W. E. M. Lands und P. Hart*, J. Biol. Chem. **240**, 1905 (1965); J. Lipid Res. **5**, 81 (1964). — 10. *F. Possmayer, G. L. Scherphof, T. M. A. R. Dubbelman, L. M. G. van Golde und L. L. M. van Deenen*, Biochim. Biophys. Acta **176**, 95 (1969). — 11. *W. Stoffel, H. G. Schiefer und G. D. Wolf*, Z. physiol. Chem. **347**, 102 (1966). — 12. *W. Stoffel, M. E. De Tomas und H. G. Schiefer*, Z. physiol. Chem. **348**, 882 (1967). — 13. *W. Stoffel*, unveröffentlicht. — 14. *J. Elovson, B. Akesson und G. Arvidson*, Biochim. Biophys. Acta **176**, 214 (1969). — 15. *B. De Kruyff, L. M. G. van Golde und L. L. M. van Deenen*, Biochim. Biophys. Acta **210**, 425 (1970). — 16. *P. Overath, H. H. Schairer und W. Stoffel*, Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) **67**, 606 (1970).

Adresse des Autors:

Professor Dr. Dr. *W. Stoffel*,  
5 Köln 41, Joseph-Stelzmann-Straße 52  
Institut für Physiologische Chemie der Universität Köln