Phospholipide

in Biochemie, Experiment und Klinik

Herausgegeben von G. Schettler

Mit Beiträgen von

Y. H. Abdulla
C. W. M. Adams
D. E. Bowyer
A. M. Ehrly
H. Fritsch
G. A. Gresham
G. H. de Haas
A. N. Howard
E. Kautzsch
M. Kiese
J. Klemm
P. Läuger
H. G. Lasch
E. Morgenstern
M. Obladen
T. Oda
J. Patelski
Th. Pfleiderer
W. Piper
J. Polonovski
G. Schettler
Kl. Schimpf
W. Stoffel
H. Wagener
E. Weber
M. Zöller

2. Auflage
94 Abbildungen, davon 18 farbig, 12 Tabellen

Sonderdruck

Nachdruck nur mit Genehmigung des Verlages gestattet

Georg Thieme Verlag Stuttgart 1973

Struktureigenschaften der Pankreasphospholipase A des Schweins

Von G. H. de Haas

Phospholipase A (E. C. 3.1.1.4) tritt in der Bauchspeicheldrüse als inaktives Zymogen auf. Begrenzte Proteolyse durch Trypsin verwandelt das Zymogen in das aktive Enzym durch Spaltung eines Heptapeptids am N-Terminal des Zymogenmoleküls. Das aktive Enzym wie das Zymogen sind einkettige Proteine, die intramolekular durch 6 Disulfidbrücken verbunden sind und aus 123 bzw. 130 Aminosäuren bestehen.

Untersuchungen von Phospholipiden, die unter Modifizierung verschiedener Teile des Moleküls chemisch synthetisiert wurden, führten zur Definition der Substratspezifizität, der stereochemischen Eigenschaften und der minimalen Substratbedürfnisse des Enzyms.

Die vollständige Aminosäurensequenz und die Positionen der 6 Disulfidbrücken werden mitgeteilt.

Durch Verwendung wasserlöslicher Lecithine, die kürzere Fettacylketten enthalten, werden die kinetischen Parameter k_{cat} und „K_m" mitbestimmt. Ihre Abhängigkeit von der Fettacylkettenlänge und vom pH-Wert wird diskutiert. Der Einfluß der verschiedenen Lipid-Wasser-Grenzschichten auf die Bindekraft zwischen Enzym und Lipiden ist untersucht worden.

Der Einfluß chemischer Modifizierung gewisser Aminosäurenseitenketten (ε-NH_2: α-NH_2) auf die kinetischen Eigenschaften des Enzyms wird diskutiert.

Die chemischen Synthesen einiger stark wirkender konkurrierender Inhibitoren werden angegeben.

Wege der Phospholipid-Synthese

Von W. Stoffel

Phospolipide sind wesentliche Bestandteile der Membranenstrukturen der tierischen, Bakterien- und Pflanzenzellen. Über ihre physikalischen und chemischen Parameter wurden in den letzten Jahren umfangreiche Informationen gewonnen, was zu unserem Verständnis der Funktion von Phospholipiden als Membrankomponenten beitragen kann. Es sollen hier Wege der Biosynthese von Phospholipiden besprochen und noch offene Probleme diskutiert werden. Aus frühen Versuchen mit markierten Vorstufen in vivo und in vitro war bereits zu schließen, daß Phospholipide in situ von geeigneten Vorstufen mit niedrigem Molekulargewicht (Phosphat, Fettsäure, Cholin, Glycerin) gebildet werden. Die an der Biosynthese von Phospholipiden beteiligten Stoffwechselvorgänge wurden durch die Untersuchungen von Kornberg (1) und Kennedy (2) eingeleitet und zum Teil aufgeklärt.

Die Ausgangsverbindung für die Biosynthese von Phospholipiden ist 3-Glycerophosphat. Kornberg und Pricer (3) zeigten, daß die Leber ein Acyl-CoA-Synthetase-System enthält, das in der Lage ist, langkettige Fettsäuren unter der Bildung von Thioestern des CoA gemäß folgender Gleichung zu aktivieren:

Fettsäure + ATP → Acyl-Adenylat + PP_i

Acyl-Adenylat + CoA → Acyl-CoA + AMP

Die gleichen Autoren (4) wiesen außerdem in der Leber Acyl-Transferasen nach, die sich dieser Thioester bedienen, um in einer zweistufigen Veresterung von 3-Glycerophosphat Phosphatidsäure zu bilden:

3-Glycerophosphat + Acyl-CoA → 1-Acyl-3-Glycerophosphat + CoA

Lysophosphatidsäure + Acyl-CoA → Phosphatidsäure + CoA

3-Glycerophosphat kann entweder durch Übertragung der Phosphatgruppe auf Glycerin durch Glycerokinase katalysiert gebildet werden oder durch die NADH-abhängige Reduktion von Dihydroxyacetonphosphat durch 3-Glycerophosphatdehydrogenase entstehen.

Die oben genannte Reaktionsfolge ist nicht der einzige Weg zur Bildung von Phosphatidsäure. Pieringer und Hokin (5, 6) wiesen nach, daß Lysophosphatidsäure in der Monoglyceridkinase-Reaktion gebildet wird:

Monoglycerid + ATP → Lysophosphatidsäure + ADP

oder durch Phosphorylierung von 1,2-Diglycerid mit ATP durch eine Diglyceridkinase, wie Hokin zeigen konnte (7):

1,2-Diglycerid + ATP → Phosphatidsäure + ADP

Das Diglycerid könnte ebenfalls durch Acyl-Übertragung auf Monoglycerid synthetisiert werden, eine Reaktion, die in der Darmschleimhaut der Ratte nachgewiesen wurde (Clark und Huebscher, 8):

Monoglycerid + Acyl-CoA → Diglycerid + CoA

Vor kurzem beschrieben HAJRA, AGRANOFF u. a. (9, 10, 11) die Acylierung von Dihydroxyacetonphosphat zu 1-Acyldihydroxyaceton-3-phosphat, das anschließend durch eine NADPH-abhängige Dehydrogenase reduziert wird:

Dihydroxyacetonphosphat + Acyl-CoA → 1-Acyldihydroxyaceton-3-phosphat + CoA

1-Acyldihydroxyaceton-3-phosphat + NADPH + H^+ → Lysophosphatidsäure + $NADP^+$

Bei der Biosynthese vieler Glycerophosphatide (12, 16) wird zuerst Phosphatidsäure durch Phosphatidsäurephosphatase unter Bildung von 1,2-Diglycerid dephosphoryliert:

3-Phosphatidsäure → 1,2-Diglycerid + P_i

Diese Reaktion erklärt die Beobachtungen, daß ^{32}P-markiertes Glycerophosphat in Phospholipiden nicht mehr markiert ist, während ^{14}C-markiertes Glycerophosphat die Radioaktivität behält. Das gebildete Diglycerid kann jetzt in einer Vielfalt von Synthese-Reaktionen genutzt werden, die entweder zu Triglyceriden führen, wenn eine dritte Acylgruppe über das CoA-Derivat in Position 3 eingeführt wird, oder zu Transferase-Reaktionen, bei denen die phosphorylierten Basen Cholin und Äthanolamin eingeführt werden und Phosphatidylcholin und Phosphatidyläthanolamin entstehen. Die Cholinbase wird durch eine ATP-abhängige Kinase zu Phosphorylcholin phosphoryliert. Diese von WITTENBERG und KORNBERG (13) gereinigte Kinase kommt in vielen Organen vor. Einen Hauptbeitrag zum Verständnis biosynthetischer Vorgänge bei Phospholipiden lieferte KENNEDY (14) durch die Beobachtung, daß CTP für den Einbau von Phosphorylcholin in Lecithin und von Phosphoryläthanolamin in Phosphatidyläthanolamin benötigt wird, wobei zunächst folgende Reaktion stattfindet:

Phosphorylcholin + CTP ⇌ CDP-Cholin + PP_i

Diese, durch die Phosphorylcholincytidyltransferase katalysierte Reaktion ist reversibel.

Die Übertragung von P-Cholin auf ein Diglycerid erfolgt dann nach folgender Reaktionsgleichung:

CDP-Cholin + 1,2-Diglycerid ⇌ Phosphatidylcholin + CMP

Das Enzym, das diese reversible Reaktion katalysiert, ist die Phosphorylcholinglyceridtransferase. Zu erwähnen ist, daß dieser Weg nach KENNEDY in vitro experimentell bewiesen worden ist, und daß bis jetzt nur wenige in vivo-Versuche den Beweis erbringen, daß es sich dabei um den in vivo wichtigsten Weg handelt.

Man nimmt an, daß in ähnlicher Weise Phosphatidyläthanolamin aus der entsprechenden Base CDP-Äthanolamin synthetisiert wird. Neben dem Diglyceridanteil kann ein analoges 1-Alkyl-2-Acylglycerin als Vorstufe dienen und zu cholin- bzw. äthanolaminhaltigen Plasmalogenen führen. Diese Übertragung ist von KIYASU und KENNEDY (15) in der Rattenleber nachgewiesen worden. Der Vollständigkeit halber soll ein kurzer Überblick über die Synthese von Phosphatidyl-Inosit (PI), -Serin (PS), -Glycerin (PG) und Cardiolipin (DPG) gegeben werden.

HUEBSCHER (17) und BORKENHAGEN, KENNEDY und FIELDING (18) schließen eine Übertragung von O-Phosphoserin vom CDP-Serin auf 1,2-Diglycerid analog der

beschriebenen Bildung von Lecithin aus. Statt dessen substituiert Serin die Base Äthanolamin in einer isoenergetischen Reaktion aus PÄ:

Phosphatidyläthanolamin (PÄ) + L-Serin ⇄ Phosphatidylserin + Äthanolamin

Die Untersuchungen von KANFER und KENNEDY (19) ergaben, daß die Synthese des wichtigsten Phospholipids in E. coli – Phosphatidyläthanolamin – auf einem ganz bestimmten Weg abläuft:
E. coli bildet durch Übertragung des Diglycerids vom CDP-Diglycerid auf Serin zunächst PS, woraus nach Decarboxylierung PÄ entsteht.
BREMER und GREENBERG (20) beschrieben, daß in Lebermikrosomen eine Umwandlung von Phosphatidyläthanolamin zu Phosphatidylcholin durch schrittweise Methylierung der Aminogruppe mit S-Adenosylmethionin als Methyldonator stattfindet. Die physiologische Bedeutung dieser Reaktionsfolge, besonders in Neurospora crassa, im Vergleich zur Neubildung wurde von BREMER (21) untersucht. Er stellte fest, daß sie für die Biosynthese von Lecithin in der eucaryoten Zelle weniger wichtig ist. Dieses Liponukleotid-CDP-Diglycerid (12) wird aus CTP und Phosphatidsäure gebildet, wobei die Cytidylgruppen durch Pyrophosphorylyse wie folgt übertragen werden:

Phosphatidsäure + CTP ⇄ CDP-Diglycerid + PP_i

In den Geweben von Säugern sind CDP-Diglyceride Zwischenstufen in der Transferreaktion auf Myoinosit (AGRANOFF, PAULUS und KENNEDY):

CDP-Glycerid + Myoinosit ⇄ Phosphatidylinosit + CMP

und in der auf 3-Glycerophosphat unter Bildung von Phosphatidylglycerophosphat, das anschließend dephosphoryliert wird:

CDP-Diglycerid + 3-Glycerophosphat → Phosphatidylglycerophosphat + CMP-Phosphatidylglycerophosphat → PG + P_1

KIYASU hat zeigen können, daß bei der Synthese von Cardiolipin CDP-Diglycerid als Donator des Diglyceridanteils bei der Übertragung auf Phosphatidylglycerin dient.
Diese Reaktion wurde in E. coli nachgewiesen (22, 23).
Diese sehr kurze Zusammenfassung der biosynthetischen Wege der verschiedenen Phospholipidklassen soll zu einigen Problemen überführen, die sich ergeben, wenn man die Einzelheiten der Biosynthese der beiden hauptsächlichen Phospholipide PC und PÄ untersucht. Es sollen Fragen diskutiert werden, die sich auf die Struktur, Herkunft und Funktion des lipophilen und hydrophilen Teils von PÄ und PC beziehen, und solche, die mit der Topologie der Synthese innerhalb der Zelle zusammenhängen.

1) *Hydrophober Teil des PL-Moleküls – (s. S. 12)*

Eingangs wurde Bezug genommen auf die asymmetrische Verteilung der Fettsäuren mit den ungesättigten Fettsäuren vorwiegend in Position 2 (24, 25).
Es ist bekannt, daß die Fettsäurezusammensetzung von PÄ und PC in verschiedenen Membranen der Zelle unterschiedlich ist, und daß die Fettsäurebesetzungen der Phospholipide und der Triglyceride sehr deutlich verschieden sind. Die vorhin beschriebenen Synthesewege würden jedoch beinhalten, daß die molekularen Species von Triglyceriden und den verschiedenen Phospholipiden identisch sein müßten. Die

besonderen Merkmale der Lipidklassen erfordern daher Steuerungsmechanismen, die zu der asymmetrischen Fettsäureverteilung und den Unterschieden in den Lipidklassen führen. Während bisher bezüglich der letztgenannten Beobachtung nur wenig bekannt ist, sind in den Laboratorien von LANDS, VAN DEENEN und STOFFEL Untersuchungen mit dem Ziel durchgeführt worden, Einblick in den Ursprung der asymmetrischen Fettsäureverteilung zu gewinnen. LANDS untersuchte die Acylierungsreaktion von Lysolecithinen und Lysokephalinen und nahm an, daß es sich bei dieser Reacylierung von Lysoverbindungen um einen wesentlichen Mechanismus handeln könne. Das Auftreten der Phospholipasen A_1 und A_2 in Mitochondrien-, Mikrosomen- und besonders Lysosomen-Frakticnen führt offensichtlich zur kontinuierlichen Bildung von Lysophospholipiden, die anschließend durch Acylierung mit Acyl-CoA-Estern schnell rekonstituiert werden können.

LANDS (26) hat nachgewiesen, daß die 1-Position vorzugsweise acyliert wird von einer Transferase mit höherer Affinität für gesättigte Fettsäuren, die z. B. die Übertragung von Stearinsäure (18:0) viel besser katalysiert als die von Linolsäure (18:2). VAN DEN BOSCH (27) bewies, daß die Acylierung von 2-Acylglycerophosphorylcholin am schnellsten erfolgt durch 18:0 > 16:0 > 12:0 > 18:1 > 18:2.

Die Acylübertragung auf die Position 2 des Glycerophosphats wird im allgemeinen durch eine Transferase mit größerer Affinität für hochungesättigte Fettsäuren katalysiert (26, 27, 28). In diesem Punkt scheint allgemeine Übereinstimmung zu bestehen. Man könnte diese Feststellung dahingehend erweitern, daß man sagt, je länger die Kette der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, um so vollständiger die Acylierung. Bei der höheren Affinität der mehrfach ungesättigten Fettsäuren für die Transferase könnte es sich um eine strukturelle Beziehung der Systeme von cis-Olefinbindungen zum Enzym handeln, sie könnte jedoch auch Ausdruck einer besseren Löslichkeit sein. Untersuchungen mit strukturell unnatürlichen Isomeren machen es unwahrscheinlich, daß es für jede einzelne ungesättigte Fettsäure eine spezifische Transferase gibt (28, 29).

Die Art der in Position 1 vorhandenen Fettsäuren hat einen deutlichen Einfluß auf die Akzeptorfunktion der betreffenden Lysoverbindung (28). Gesättigtes Lysolecithin wurde mit ungesättigtem Lysolecithin als Akzeptor verglichen, und einzelne Fettsäuren mit zunehmender Anzahl von Doppelbindungen und Paaren konkurrierender Fettsäure-Coenzym-A-Ester als Substrate in der Acylierungsreaktion untersucht. Gesättigtes Lysolecithin bevorzugt di-, tri- und tetraenoische Fettsäuren gegenüber monoenoischen und gesättigten Fettsäuren. Beim Einsatz von zwei konkurrierenden Fettsäuren mit zwei oder mehr Doppelbindungen in dieser Reaktion erfolgt ein fast äquimolarer Einbau.

Mit Lysolecithin (18:2 in Position 1) wurde eine gesteigerte Acylierung beobachtet. Die Präferenz der ungesättigten Acylreste ist noch ausgeprägter. Treten Palmitinsäure und Linolensäure als Konkurrenten in der Acylierungsreaktion des ungesättigten Lysolecithins auf, so unterdrückt dieses den Einbau der Palmitinsäure viel stärker (1:27,5) als gesättigtes Lysolecithin es tut (1:5,6).

Neben Enzymspezifitäten könnten die VAN-DER-WAALS-Kräfte zwischen der Acylkette in Position 1 des Akzeptors und der des Acyl-CoA-Ester-Substrats eine mögliche physikalische Erklärung für die verschiedenen Akzeptoreigenschaften der gesättigten und ungesättigten Lysolecithine geben.

Lysophosphatidsäure (29) mit Palmitinsäure in Position 1 baut Säuren allein oder konkurrierend mit Fettsäuren unterschiedlichen Sättigungsgrades in äquimolaren Verhältnissen in großem Maße ein. Die Ergebnisse der UTRECHT- (30) und der Kölner Gruppe in bezug auf die Spezifität der Acylierungsreaktion von Lysophosphatidsäure stimmen nicht überein.

Während VAN DEENEN et al. eine Präferenz des Einbaus für ungesättigte Fettsäuren in die freie Position 2 der Lysophosphatidsäure fanden, beobachteten STOFFEL et al. vergleichbare Raten der Übertragung gesättigter und ungesättigter Fettsäurereste.

Eine geringe Positionsspezifität bei der Veresterung von 3-Glycerophosphat wurde auch von LANDS (26) beobachtet, aber kürzlich hat er eine spezifische Acylierung an Phosphatidsäure in Betracht gezogen (31).

ELOVSON u. a. (32) berichteten in einer vorläufigen Mitteilung über den Einbau von markierten Fettsäuren und Glycerin in Leberlipide in vivo. Diglyceride, Phosphatidsäuren und Lecithine wurden isoliert und die Fettsäureverteilung in den Positionen 1 und 2 bestimmt. In den drei Klassen wurde eine asymmetrische, ausgeprägt positionsbezogene Spezifität für die verschiedenen Fettsäuren beobachtet. Die spezifischen Radioaktivitäten in diesen drei Klassen weisen auf eine echte Beziehung zwischen Vorstufe und Produkt hin. Es gibt keine Erklärung für die abweichenden Ergebnisse bei der Acylierung von Glycerophosphat und Lysophosphatidsäure und keine befriedigende Antwort auf die Frage, wann und wie die asymmetrische Fettsäureverteilung der Phospholipide zustande kommt. Möglicherweise bildet eine Selektivität der CDP-Cholin-Diglycerid-Phosphorylcholintransferase für besondere Arten von Diglyceriden die Grundlage für die asymmetrische Verteilung. MUDD u. a. (33) prüften jedoch drei Diglyceride mit 4, 2 und 1 Doppelbindung im Diglycerid und fanden keinerlei Spezifität für mehrfach ungesättigte Diglyceride.

Darüber hinaus könnten sekundär Diglyceride für die Biosynthese von Triglyceriden und PL entstehen durch die Umkehr der CDP-Cholindiglyceridphosphorylcholintransferase-Reaktion und damit das Bild noch komplizierter gestalten.

2) *Die hydrophile Gruppe* der Phospholipide bestimmt in großem Maße die Eigenschaften dieser Moleküle, und von diesen stellen die Cholin und Äthanolamin enthaltenden Lipide die zwei Hauptklassen. Es liegt auf der Hand, daß die räumlich große Trimethylammoniumgruppe im Vergleich zum Äthanolamin im wäßrigen Milieu andere Eigenschaften besitzt.

Wenn Cholin nicht mit der Nahrung zugeführt wird, kann es durch schnelle Methylierung von Äthanolamin oder Phosphoryläthanolamin synthetisiert werden. Es gibt zwar eine Cholinkinase, aber alles Suchen nach einer Äthanolaminkinase blieb bisher erfolglos; KENNEDY (12, 16) vermutete jedoch deren Vorhandensein in der Zelle. Äthanolaminphosphat kann direkt auf einem bis jetzt unbekannten Weg aus Serin entstehen. Kürzlich wurde eine andere Möglichkeit aufgeklärt, die vom Serin über Dihydrosphingosin zum Äthanolaminphosphat führt, wobei letzteres dann wirksam zu Cholin methyliert und in die zu Beginn umrissene Sequenz eingebaut wird (34).

Wenn man die Wege der Biosynthese von Phospholipiden in der Säugetierzelle untersucht, ergeben sich gewisse topochemische Fragen. Eine Anzahl von Laboratorien hat sich bemüht, den Ort der Phospholipidsynthese zu lokalisieren. Heute ist

bekannt, daß das Enzym, das die langkettige Fettsäure aktiviert, hauptsächlich auf den Membranen des endoplasmatischen Retikulums vorhanden ist. Auch die Acyltransferasen kommen in der Mikrosomenfraktion und in der äußeren Mitochondrienmembran vor, nach STEIN und STEIN (35) ebenfalls in der Zytoplasmamembran. Unsere Beobachtung (36), daß Lysophospatidsäure durch Transferase der äußeren Mitochondrienmembran aktiv acyliert wird, wurde kürzlich von WOJTCZAK und seinen Mitarbeitern (37) bestätigt. LANDS (38) jedoch behauptet, daß nur die Mikrosomen Transferasen enthalten. Phosphatidsäurephosphohydrolase ist in den Lysosomen lokalisiert (39).

So ergibt sich die Frage, was verhindert den weiteren Abbau des Diglycerids in den Lysosomen, da bekannt ist, daß Lysosomen eine Lipase und Phospholipase A_1 und A_2 enthalten. Die Phosphorylcholindiglyceridtransferase wiederum wird in der Mikrosomenfraktion gefunden. Alle diese Enzyme kommen auch in der äußeren Mitochondrienmembran vor, obwohl das endoplasmatische Retikulum den Hauptort der Phospholipidsynthese darstellt. Die Enzymausstattung der äußeren Mitochondrienmembran kann ihren Ursprung widerspiegeln und zur Autonomie der Mitochondrien beitragen. Im Augenblick läßt sich sehr wenig über die Steuerung der Phospholipidsynthese sagen. Was setzt sie in Gang und was schaltet sie ab? Untersucht man die Biosynthese gewisser Lipoproteine der Mitochondrien, erhält man Hinweise dafür, daß die Apoproteinsynthese der Lipoproteine die Phospholipidsynthese steuert. Eine andere Frage lautet: Wie wird das neu synthetisierte Phospholipid mit seinem Enzym-Protein zum Ort seiner Funktion transportiert, z. B. zur Mitochondrienmembran, Kernmembran oder Zytoplasmamembran?

Die Hauptwege der Biosynthese von Phospholipiden sind bekannt, es fehlen aber noch wichtige Einzelheiten. Die Enzymreaktionen sind nicht eingehend erforscht, und mit Ausnahme von Glycerokinase ist kein Enzym rein dargestellt worden. Unbekannt ist die Anzahl der Transferasen. Eine für jede Fettsäure oder nur eine für jede Position mit unterschiedlichen Affinitäten für jede Säure? Welche Bedeutung kommt den mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Stellung 2 und nicht in der Position 1 des Glycerophosphats zu? Was bestimmt das recht konstante Verhältnis der Synthese von PC und PÄ in Membranen? Alle diese und mehr Fragen gestalten die Forschung auf dem Gebiet der Phospholipidsynthese interessant und bedeutungsvoll.

Literatur

1 KORNBERG, A., W. E. PRICER JR.: J. Amer. chem. Soc. 74 (1952) 1617; Fed. Proc. 11 (1952) 242

2 KENNEDY, E. P.: J. biol. Chem. 201 (1953) 399; 209 (1954) 525

3 KORNBERG, A., W. E. PRICER: J. biol. Chem. 204 (1953) 329

4 KORNBERG, A., W. E. PRICER: J. biol. Chem. 204 (1953) 345

5 PIERINGER, R. A., L. E. HOKIN: J. biol Chem. 237 (1962) 653

6 PIERINGER, R. A., L. E. HOKIN: J. biol Chem. 237 (1962) 659

7 HOKIN, M. R., L. E. HOKIN: J. biol. Chem. 234 (1959) 1381

8 CLARK, B., G. HUEBSCHER: Biochim. biophys. Acta 70 (1963) 43

9 Hajra, A. K., E. B. Seguin, B. W. Agranoff: J. biol. Chem. 243 (1968) 1617

10 Hajra, A. K., B. W. Agranoff: J. biol. Chem. 243 (1968) 1609

11 Hajra, A. K.: Biochem. biophys. Res. Commun. 33 (1968) 929

12 Kennedy, E. P.: Fed. Proc. 20 (1961) 934; Harvey Lect. 57 (1962) 143

13 Wittenberg, J., A. Kornberg: J. biol. Chem. 202 (1953) 431

14 Kennedy, E. P.: Canad. J. Biochem. 34 (1956) 334

15 Kiyasu, J. Y., E. P. Kennedy: J. biol. Chem. 235 (1960) 2590

16 Kennedy, E. P., S. B. Weiss: J. biol. Chem. 222 (1956) 193

17 Huebscher, G.: Biochim. biophys. Acta 57 (1962) 555

18 Borkenhagen, L. F., E. P. Kennedy, L. Fielding: J. biol. Chem. 236 (1961) PC 28—29

19 Kanfer, J., E. P. Kennedy: J. biol. Chem. 238 (1963) 2919

20 Bremer, J., D. M. Greenberg: Biochim. biophys. Acta 46 (1961) 205

21 Bjornstad, P., J. Bremer: J. Lipid Res. 7 (1966) 38

22 Kiyasu, J. Y., R. A. Pieringer, M. Paulus, E. P. Kennedy: J. biol. Chem. 238 (1963) 2293

23 Stanacew, N. Z., L.-L. Chang, E. P. Kennedy: J. biol. Chem. 242 (1967) 3018

24 Tattrie, N. H.: J. Lipid Res. 1 (1959) 60

25 Hanahan, D. J., H. Brockerhoff, E. J. Barror: J. biol. Chem. 235 (1960) 1917

26 Lands, W. E. M., P. Hart: J. Lipid Res. 5 (1964) 81; J. biol. Chem. 240 (1965) 1905

27 van den Bosch, H., A. J. Slotboom, L. L. M. van Deenen: Biochim. biophys. Acta 176 (1969) 632; Biochim. biophys. Acta 152 (1968) 694

28 Stoffel, W., M. E. DeTomas, H. G. Schiefer: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 348 (1967) 882

29 Stoffel, W., H. G. Schiefer, G. D. Wolf: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 347 (1966) 102

30 Possmayr, F., G. L. Scherphof, T. M. A. R. Dubbelman, L. M. G. van Golde, L. L. M. van Deenen: Biochim. biophys. Acta 176 (1969) 95

31 Hill, E. E., D. R. Husbands, W. E. M. Lands: J. biol. Chem. 243 (1968) 4440

32 Elovson, J., N. Åkeson, G. Arvidson: Biochim. biophys. Acta 176 (1969) 214

33 Mudd, J. B., L. M. G. van Golde, L. L. M. van Deenen: Biochim. biophys. Acta 176 (1969) 547

34 Stoffel, W.: International Symposium on Glycolipids, University of Michigan, Mich. USA, 1969

35 Stein, J., C. Widnell, O. Stein: J. Cell. Biol. 39 (1968) 185

36 Stoffel, W., H. G. Schiefer: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 349 (1968) 1017

37 Zborowski, J., L. Wojtczak: Biochim. biophys. Acta 187 (1969) 73

38 Eibl, H., E. E. Hill, W. E. M. Lands: Europ. J. Biochem. 9 (1969) 250

39 Wilgram, G. F., E. P. Kennedy: J. biol. Chem. 238 (1963) 2615