

## Über die Wirkung von Chlorcholinchlorid und Indolessigsäure auf die Erbsen-Glyceraldehydphosphatdehydrogenase

(Kurze Mitteilung)

Von

**G. Falkner und H. Michl**

Aus dem Chemischen Institut der Hochschule für Bodenkultur, Wien

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 17. September 1968; endgültige Fassung am 19. November)

Erbsen-Glyceraldehydphosphatdehydrogenase wird von Chlorcholinchlorid (*CCC*) aktiviert. Indolessigsäure zeigt je nach dem Verhältnis der Konzentrationen aktivierende und inhibierende Effekte. Cholin und L-Serin verhalten sich wie *CCC*.

*Effect of Chlorocholine Chloride and Indole Acetic Acid on Pea Glyceraldehydephosphate Dehydrogenase*

Pea glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is activated by (2-chloroethyl)trimethyl-ammoniumchloride (*CCC*). Indole acetic acid has activating and inhibiting effects depending on the concentration of glyceraldehyde-3-phosphate. Choline and L-serine behave in the same way as *CCC*.

Die Wirkung von Chlorcholinchlorid (*CCC*) auf Wuchs und Standfestigkeit gewisser Pflanzen ist seit längerer Zeit bekannt<sup>1-3</sup>. Eingehend wurden an Getreidehalmen die anatomisch-morphologischen Veränderungen<sup>4-5</sup> und die Einlagerungen von Gerüstsubstanzen nach Anwendung von *CCC* untersucht<sup>6</sup>. Hingegen ist noch weitgehend unbekannt, wodurch

<sup>1</sup> N. E. Tolbert, J. biol. Chem. **235**, 475 (1960).

<sup>2</sup> N. E. Tolbert, Plant Physiol. **35**, 380 (1960).

<sup>3</sup> S. H. Wittwer und N. E. Tolbert, Amer. J. Bot. **47**, 560 (1960).

<sup>4</sup> H. H. Mayr und E. Presoly, Z. Acker- und Pflanzenbau **118**, 109 (1963).

<sup>5</sup> E. Primost, G. Rittmeyer und H. H. Mayr, Bodenkultur **15**, 14 (1964).

<sup>6</sup> H. H. Mayr und H. Bayzer, Z. Acker- und Pflanzenbau **121**, 295 (1965).

diese Veränderungen hervorgerufen werden und welche Rolle *CCC* im Stoffwechsel zu spielen vermag.

Von der Hypothese ausgehend, daß die Glyceraldehydphosphatdehydrogenase im Cholin-Stoffwechsel als ein regulatorisches Schlüssel-

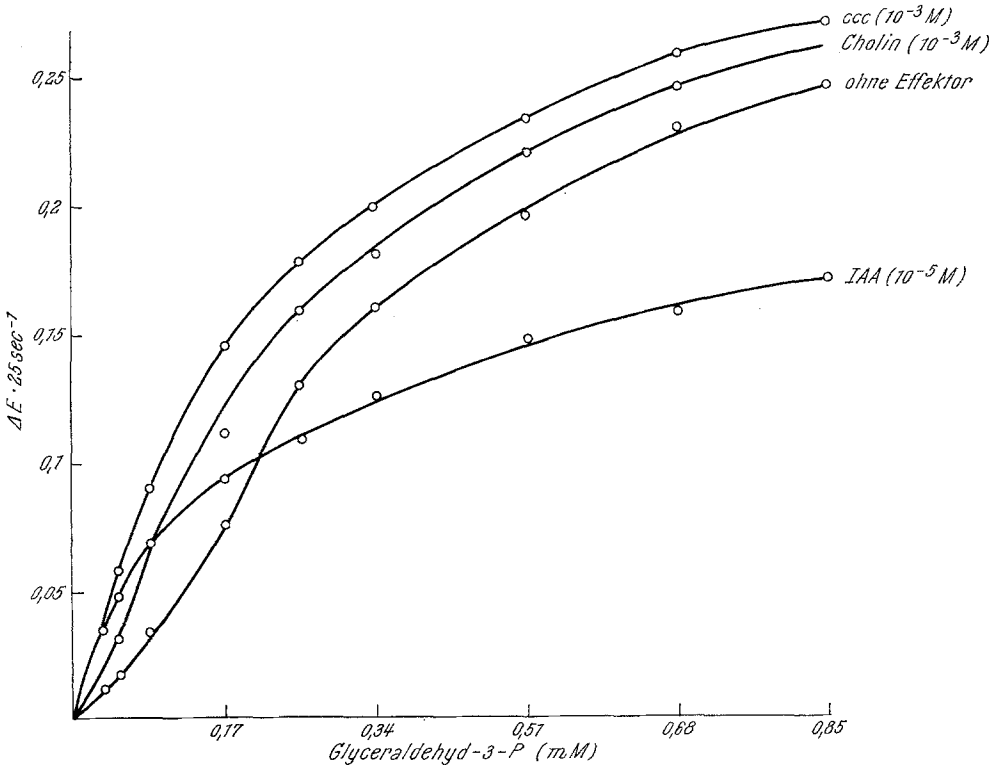


Abb. 1. Die Wirkung verschiedener Effektoren (*CCC*, Cholin, *IAA*) auf die Aktivität der Erbsen-Glyceraldehydphosphatdehydrogenase. Im Reaktionsgemisch befanden sich: 1,8 ml Pyrophosphat-Puffer (0,1 M) pH 8,4, 0,3 ml  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$  (0,17 M), 0,3 ml  $\text{NAD}^+$  (2 mg/10 ml), 0,05 ml Enzymlösung (spez. Akt.: 0,25  $\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$  Prot.) Glyceraldehyd-3-Phosphat-Lösung +  $\text{H}_2\text{O}$  bzw. Effektor-Lösung ad 3 ml

enzym wirken kann, wird in der vorliegenden Arbeit die Möglichkeit eines allosterischen Rückkopplungseffektes von Cholin und *CCC* auf dieses Enzym untersucht.

Da sich im pflanzlichen Stoffwechsel Indoleessigsäure (*IAA*) aus Tryptophan bildet und an dessen Synthese Serin beteiligt ist, das aus Glyceraldehyd-3-phosphat entstehen kann, untersuchten wir, ob *IAA* *in vitro* eine Wirkung auf die Aktivität der Glyceraldehydphosphat-

dehydrogenase ausübt und somit als allosterischer Effektor ebenfalls in Frage kommt.

### Material und Methode

Erbsensamen dienen zur Herstellung der Glyceraldehydphosphatdehydrogenase nach einer von *Hageman* und *Arnon* angegebenen Methode<sup>7</sup>, jedoch wurde der Hitzeschritt ausgelassen. Das verwendete Glyceraldehyd-3-phosphat stammte von der Firma Sigma. Chlorencholinchlorid wurde uns von den Österreichischen Stickstoffwerken zur Verfügung gestellt.

Die Geschwindigkeit der Reduktion von  $NAD^+$  haben wir mit einem Beckmann DB-Spektrophotometer mit angeschlossenem Schreiber verfolgt und daraus die Anfangsgeschwindigkeit ermittelt.

### Ergebnisse (siehe Abb. 1)

1. Die *Michaeliskurve*, die den Einfluß zeigt, den die Substratkonzentration auf die Geschwindigkeit der von der Glyceraldehydphosphatdehydrogenase katalysierten Reaktion ausübt, hat sigmoide Form.

2. In dem von uns gewählten System stellten wir durch *CCC* eine Aktivierung des Enzyms fest.

3. Indolessigsäure wirkt bei niedrigen Glyceraldehydphosphatkonzentrationen aktivierend, bei höheren inhibierend.

4. Cholin wirkt ähnlich wie *CCC*, doch ist seine aktivierende Wirkung schwächer (in  $10^{-3}m$ -Konzentrationen aktiviert es etwa gleich stark wie  $10^{-4}m$ -*CCC*).

5. L-Serin zeigt ähnliche Effekte wie Cholin.

### Diskussion

Nimmt man an, daß das Glyceraldehyd-3-phosphat als Substrat sowohl im Cholin- als auch im *IAA*-Stoffwechsel auftritt, so wäre eine gegenseitige Beeinflussung der beiden Stoffwechselforgänge durch eine regulatorische Effektorwirkung auf die Glyceraldehydphosphatdehydrogenase möglich. Auch für den Fettstoffwechsel könnte die Aktivitätsänderung der Glyceraldehydphosphatdehydrogenase von Bedeutung sein.

Die sigmoide Form der *Michaeliskurve* der Erbsensamen-Glyceraldehydphosphatdehydrogenase spricht dafür, daß diese ebenso wie die Hefe-Glyceraldehydphosphatdehydrogenase<sup>8</sup> ein allosterisches Enzym ist. Der Kurvenverlauf, der die Wirkung der *IAA* beschreibt, könnte dadurch

<sup>7</sup> R. H. Hageman und D. I. Arnon, Arch. Biochim. Biophys. **55**, 162 (1955).

<sup>8</sup> K. Kirschner, M. Eigen, R. Bitman und B. Voigt, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **56**, 1661 (1966).

zustande kommen, daß entsprechend dem Konzept von *Monod* et al.<sup>9</sup> gleichzeitig mit den Gleichgewichtskonstanten für die zwei Konformationen des allosterischen Enzyms die maximale Geschwindigkeit verändert wird.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, Herrn Hochschuldozenten Dr. *H. H. Mayr* und den Österreichischen Stickstoffwerken für die wertvolle materielle Unterstützung der Arbeit zu danken. Herrn Dr. *P. Dworsky* (Universität Wien) danken wir für überaus anregende Diskussionen.

---

<sup>9</sup> *J. Monod, J. Wyman* und *J. P. Changeux*, *J. Molec. Biol.* **12**, 88 (1965).