

Subzelluläre Verteilung von Enzymen des Purinabbaues in pflanzlichen Speicherorganen

Von

H. Ruis

Aus der Lehrkanzel für Biochemie der Universität Wien

(Eingegangen am 6. Juli 1971)

Subcellular Distribution of Enzymes of Purin Degradation in Storage Organs from Plants

The distribution of urate oxidase (E.C. 1.7.3.3), allantoinase (E.C. 3.5.2.5), and allantoicase (E.C. 3.5.3.4) was investigated in subcellular fractions from potato tubers and from cotyledons of germinating seeds of pumpkins and peas. Urate oxidase and allantoinase were detected in all three plants, allantoicase only in potatoes. The isolation and characterization of glyoxysomes from pumpkin cotyledons and of peroxisomes from pea cotyledons is described. In all three tissues a considerable part of the urate oxidase activity was present in the peroxisomes, which contained also a significant part of the allantoinase activity of pea and pumpkin seeds. The rest of the enzyme activities was detected in the 10 000 *g* supernatant of the differential centrifugation.

Die Verteilung von Uratoxidase (E.C. 1.7.3.3), Allantoinase (E.C. 3.5.2.5) und Allantoicase (E.C. 3.5.3.4) in subzellulären Fraktionen aus Kartoffelknollen und Kotyledonen von keimenden Kürbis- und Erbsensamen wurde untersucht. Uratoxidase und Allantoinase wurden in allen drei Pflanzen nachgewiesen, Allantoicase nur in Kartoffeln. Die Isolierung und Charakterisierung von Glyoxysomen aus Kürbiskotyledonen und von Peroxisomen aus Erbsenkotyledonen wird beschrieben. In allen drei Zelltypen war ein größerer Teil der Uratoxidaseaktivität in den Peroxisomen vorhanden. Diese enthielten auch einen signifikanten Teil der Allantoinaseaktivität in Erbsen- und Kürbissamen. Der Rest der Enzymaktivitäten wurde im 10 000 *g*-Überstand der differentiellen Zentrifugation nachgewiesen.

Es ist seit längerer Zeit bekannt, daß der Abbau von Purinen über Xanthin verläuft. Diese Verbindung kann über Harnsäure, Allantoin und Allantoinsäure in Harnstoff und Glyoxylsäure übergeführt werden, Harnstoff kann schließlich zu Kohlendioxyd und Ammoniak gespalten werden. Die genannten Schritte werden durch die Enzyme Xanthin-

oxidase, Uratoxidase, Allantoinase, Allantoicase und Urease katalysiert. Offenbar bedingt durch das Fehlen eines Teils dieser Enzyme verläuft der Purinabbau in den meisten Organismen nur bis zu einer der angeführten Zwischenstufen (so wird z. B. in Primaten Harnsäure ausgeschieden).

Die vorliegende Arbeit soll sich mit drei der genannten Enzyme, nämlich mit Uratoxidase, Allantoinase und Allantoicase in höheren Pflanzen beschäftigen. Pflanzliche Uratoxidase wurde erstmals in Sojabohnen nachgewiesen¹ und scheint relativ weit verbreitet zu sein². Dies gilt auch für Allantoinase, während Allantoicase bisher nur in wenigen Pflanzen nachgewiesen werden konnte³.

Über die subzelluläre Verteilung der genannten Enzyme war bis vor kurzem nur wenig bekannt. Erst in den letzten Jahren konnte gezeigt werden, daß Uratoxidase in tierischen Peroxisomen⁴ und in bestimmten pflanzlichen Peroxisomenarten wie Glyoxysomen und wahrscheinlich auch in Blattperoxisomen lokalisiert ist². Auch Allantoinase wurde in diesen Zellorganellen gefunden^{2, 5, 6}, jedoch ist die Zuordnung dieses Enzyms zu Peroxisomen nicht so eindeutig wie im Falle der Uratoxidase, da hohe Aktivitäten auch in anderen Zellfraktionen nachgewiesen wurden. In vielen Fällen scheint das Enzym nur in der löslichen Fraktion auf. Über die subzelluläre Lokalisation der Allantoicase scheint bisher nichts genaueres bekannt zu sein.

Es ist durch elektronenmikroskopische Untersuchungen gezeigt worden, daß Peroxisomen bzw. ihr morphologisches Äquivalent, die „microbodies“, in fast allen pflanzlichen Zelltypen vorkommen. Biochemisch charakterisiert waren bis vor kurzem allerdings nur Glyoxysomen aus keimenden fetthältigen Samen und Peroxisomen aus grünen Blättern. In letzter Zeit gelang es, eine weitere Peroxisomenart aus Kartoffelknollen zu isolieren, die sich in ihren biochemischen Eigenschaften von den bisher bekannten pflanzlichen Peroxisomen unterscheidet⁷. In der vorliegenden Arbeit wird nun das Problem aufgeworfen, wie weit Enzyme des Purinstoffwechsels in pflanzlichen Peroxisomen verbreitet sind. Vergleichende Untersuchungen über die Lokalisierung solcher Enzyme in Glyoxysomen aus Kürbis (*Cucurbita pepo*), in Kartoffelperoxisomen und in den bisher ebenfalls nicht charakterisierten Peroxisomen aus Erbsensamen sollen diese Frage zumindest zum Teil beantworten. Ein solcher Vergleich dient nicht nur der Charakterisierung der genannten Peroxisomenarten, sondern ist auch von entwicklungs-geschichtlichem Interesse.

Materialien und Methoden

Materialien. Die als Substrate verwendeten Verbindungen Harnsäure, Allantoin und Allantoinsäure wurden von Sigma (St. Louis, USA) bezogen.

Bei allen anderen Chemikalien wurde der höchste käuflich erhältliche Reinheitsgrad verwendet.

Isolierung der subzellulären Fraktionen. Als Ausgangsmaterialien zur Präparation der subzellulären Fraktionen wurden Kartoffelknollen (*Solanum tuberosum*), Erbsen- (*Pisum sativum*) und Kürbissamen (*Curcubita pepo*) verwendet. Die Kartoffeln wurden vor der Weiterverarbeitung geschält, Erbsensamen wurden 6 Tage, Kürbissamen 5 Tage im Dunkeln bei 25 °C angekeimt. Bei beiden Samenarten wurden die Zellorganellen aus den Kotyledonen isoliert. Das Pflanzenmaterial (10 bis 200 g) wurde mit destill. Wasser gewaschen und anschließend bei 2 °C mit der doppelten Menge eines Mediums versetzt, das aus 0,4 M Saccharose, 0,165 M Tricin (pH 7,5), 10^{-2} M KCl, 10^{-2} M MgCl₂, 10^{-3} M ÄDTA, 10^{-2} M Dithiothreit und 0,2% Rinderserumalbumin bestand. Alle folgenden Schritte wurden ebenfalls bei 2 °C durchgeführt. Das Zellmaterial wurde 5 bis 10 Min. mit einem Zwiebel-schneider zerkleinert und anschließend durch Miracloth filtriert. Die dabei erhaltenen Homogenate wurden nun einer differentiellen Zentrifugation unterworfen. Zunächst wurde 10 Min. bei 280 g zentrifugiert und der Niederschlag verworfen. Dann wurde eine auch Peroxisomen enthaltende Rohmitochondrienfraktion durch 15 Min. Zentrifugieren bei 10 000 g erhalten. Der Überstand dieser Zentrifugation enthielt lösliche Proteine und Mikrosomen.

Zur Trennung der in der Rohmitochondrienfraktion enthaltenen Komponenten wurde diese in etwa 2 ml Isolierungsmedium suspendiert und auf lineare Saccharosegradienten, hergestellt aus je 13 ml 60% und 35% Saccharose in 10^{-2} M Tricin, 10^{-3} M ÄDTA (pH 7,5), aufgetragen und in einem Beckman SW 25.1-Rotor 4 h bei 25 000 Upm zentrifugiert. Dann wurden entweder die sichtbaren Banden mit Hilfe einer Injektionsspritze mit rechtwinkelig umgebogener Nadel aus dem Gradienten isoliert oder die Gradienten wurden nach Anstechen des Röhrchenbodens in 1-ml-Fraktionen geteilt. Die Fraktionen wurden auf für die einzelnen Organellen charakteristische Leitenzyme geprüft; zusammengehörige Fraktionen wurden dann vereinigt.

Enzymaktivitätsbestimmungen. Alle spektralphotometrischen Messungen wurden mit einem Gilford 240 Spektralphotometer in 3-ml-Küvetten ausgeführt. Die Inkubationstemp. bei den Aktivitätsbestimmungen war 25 °C. Alle Enzymaktivitäten werden als μ Mol umgesetzttes Substrat oder gebildetes Produkt pro Min. (*U*) angegeben.

Uratoxidase. Die Aktivität wurde in $5 \cdot 10^{-2}$ M Boratpuffer (pH 9,0) mit $6,6 \cdot 10^{-5}$ M Harnsäure bei 293 nm gemessen.

Allantoinase und Allantoicase. Zur Bestimmung der Aktivität dieser beiden Enzyme wurden mit $5 \cdot 10^{-3}$ M Allantoin bzw. Allantoinsäure in 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,5), Gesamtvolumen 1 ml, 15 Min. inkubiert. Anschließend wurden die Produkte, Allantoinsäure bzw. Glyoxylsäure, mit Hilfe der differentiellen Glyoxylatanalyse nach *Trijbels* und *Vogels*⁸ bestimmt.

Katalase (E.C. 1.11.1.6). Die Aktivität wurde spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 240 nm gemessen⁹.

Isocitratlyase (E.C. 4.1.3.1). Die Aktivität wurde durch Bestimmung des gebildeten Glyoxylats als Phenylhydrazon im Spektralphotometer (324 nm) gemessen¹⁰.

Malatsynthase (E.C. 4.1.3.2). Die Bestimmung erfolgte durch eine Modifikation der Methode von *Cooper* und *Beevers*¹⁰. Die Inkubationen

wurden in $6,5 \cdot 10^{-2}$ M *Tris*-HCl-Puffer (pH 8,0) mit $1,8 \cdot 10^{-4}$ M Acetyl-Coenzym A, $2,0 \cdot 10^{-2}$ M Natriumglyoxylat, $8,0 \cdot 10^{-3}$ M $MgCl_2$ und $1,5 \cdot 10^{-4}$ M 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoesäure) durchgeführt. Die Aktivität wurde bei 412 nm gemessen.

Glykolatoxidase (E.C. 1.1.3.1). Die Aktivität des Enzyms wurde durch spektralphotometrische Messung der Bildung von Glyoxylatphenylhydrazon (324 nm) bestimmt¹¹.

Fumarase (E.C. 4.2.1.2). Es wurde die Bildung von Fumarat aus L-Malat bei 240 nm gemessen¹⁰.

Proteinbestimmung. Proteinkonzentrationen wurden nach der Methode von *Lowry et al.*¹² bestimmt.

Ergebnisse

Die verwendeten Pflanzenmaterialien wurden zunächst auf ihren Gehalt an Enzymen des Purinabbaus untersucht (Tab. 1).

Tabelle 1. Aktivitäten von Purinstoffwechsellenzymen in Homogenaten aus Kartoffeln, Kürbis- und Erbsenkotyledonen (in Enzymeinheiten pro 100 g Zellmaterial)

	Kartoffel	Kürbis	Erbsen
Uratoxidase	0,24	1,06	1,43
Allantoinase	0,13	0,41	0,21
Allantoicase	0,10	0,00	0,00

Während Uratoxidase und Allantoinase in allen drei Pflanzen vorhanden waren, konnte Allantoicase nur in Kartoffeln nachgewiesen werden.

Nun sollte die subzelluläre Lokalisation der Enzyme bestimmt werden. Da diese in einigen bisher untersuchten Fällen zumindest zum Teil in den Peroxisomen gefunden wurden, war zunächst eine Isolierung und Charakterisierung dieser Zellorganellen notwendig. Peroxisomen aus Kartoffeln wurden vor kurzem erstmals isoliert⁷. Die hier zur Präparation dieser Organellen verwendeten Methoden sind im wesentlichen mit den bereits beschriebenen identisch. Glyoxysomen aus Kürbiskotyledonen sedimentieren bei der differentiellen Zentrifugation mit den Mitochondrien, wie dies auch für Glyoxysomen aus anderen Pflanzen gefunden worden ist. Dies wurde mit Hilfe von zwei Leitenzymen festgestellt. 31% der Aktivität der für alle Peroxisomenarten charakteristischen Katalase (Gesamtaktivität 330 000 U/100 g Keimblätter) wurden in der Rohmitochondrienfraktion nachgewiesen. Der Rest der Aktivität war im Überstand dieser Fraktion zu finden. Der gleiche Prozentsatz, 31% der Aktivität der Isocitratlyase (Gesamtaktivität 17 U/100 g), eines Glyoxysomenenzym, wurde in derselben Partikelfraktion nachgewiesen.

Wieder war ein etwas größerer Teil der Aktivität im Überstand zu finden. Im Falle der Isocitratlyase scheint allerdings die Ausbeute an partikelgebundenem Enzym sehr stark von den Isolierungsbedingungen abzuhängen, besonders von der Zusammensetzung des Isolierungsmediums. Beim Weglassen von Rinderserumalbumin aus diesem Medium ist nämlich praktisch die gesamte Isocitratlyaseaktivität in der löslichen Fraktion zu finden.

Durch isopyknische Dichtegradientenzentrifugation auf einem Saccharosegradienten kann nun die Rohmitochondrienfraktion weiter aufgetrennt werden, wobei zwei Organellenfraktionen erhalten werden. Die Organellen mit einer Dichte von 1,19 wurden mit Hilfe von Fumarase als Leitenzym als Mitochondrien identifiziert. Die zweite Fraktion wies eine Dichte von 1,25 auf. Folgende Peroxisomen- bzw. Glyoxysomenenzyme wurden in ihr nachgewiesen: Katalase (spezif. Aktivität 10 200 U/mg Protein), Glykolatoxidase (0,007 U/mg), Isocitratlyase (0,53 U/mg) und Malatsynthase (2,10 U/mg). Alle diese Enzyme zeigten bei einer Auffraktionierung des Gradienten die gleiche Verteilung mit einem Maximum in der Glyoxysomenfraktion. Sonst waren die Enzyme nur mit wesentlich geringerer Aktivität im Gradientenüberstand nachweisbar.

Bei der Isolierung von Peroxisomen aus Erbsenkotyledonen ergab sich insofern eine Schwierigkeit, als in diesem Fall eine durch Zentrifugation bei 10 000 *g* erhaltene Partikelfraktion zum größten Teil aus Material besteht, das im isopyknischen Saccharosegradienten bei einer Dichte von etwa 1,27 sedimentiert. Diese Fraktion, die noch nicht eindeutig identifiziert wurde, besteht möglicherweise aus in Proteinkörpern (Aleuronkörnern) lokalisierten Speicherproteinen. Ein größerer Teil dieses Materials kann von der Rohmitochondrienfraktion abgetrennt werden, wenn bei der differentiellen Zentrifugation zunächst 7 Min. bei 1000 *g* zentrifugiert wird. Bei einer Auftrennung des anschließend erhaltenen 10 000 *g*-Niederschlags über einen linearen isopyknischen Saccharosegradienten von 35 bis 60% Saccharose können jedoch Peroxisomen (Dichte 1,25) noch immer nicht vollständig von den restlichen Proteinkörpern getrennt werden. Dies war erst bei Verwendung eines flacheren linearen Gradienten (50 bis 60% Saccharose) möglich. In der auf diese Weise erhaltenen Peroxisomenfraktion ist zwar Katalase vorhanden, nicht aber Isocitratlyase. 57% der gesamten Katalaseaktivität (117 000 U/100 g Keimblätter) wurden im 10 000 *g*-Niederschlag gefunden. 75% der Aktivität der Gradientenfraktionen waren in den Peroxisomen lokalisiert.

Die Untersuchungen über die Verteilung der drei Enzyme des Purinabbaus ergaben folgende Resultate: In Kartoffeln konnte sowohl Allantoinase als auch Allantoicase nur im Überstand der Rohmito-

chondrienfraktion nachgewiesen werden. Die Verteilung der Uratoxidase über die verschiedenen subzellulären Fraktionen ist schon früher im Detail untersucht worden⁷. Unter den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Bedingungen wurden 40% des Enzyms in der Rohmitochondrienfraktion gefunden, 60% im Überstand. 59% des partikelgebundenen Enzyms könnten in der Peroxisomenfraktion nachgewiesen werden, der Rest der Aktivität ist über einen größeren Teil des Gradienten verteilt und ist möglicherweise mit Peroxisomenfragmenten assoziiert.

Tabelle 2. Uratoxidase- und Allantoinaseaktivität in subzellulären Fraktionen aus Kürbiskotyledonen (aus 100 g Keimblättern)

	Uratoxidase (mU)	Allantoinase (mU)
10 000 g-Niederschlag	290	40
10 000 g-Überstand	810	370
Mitochondrien	60	9
Glyoxysomen	220	26

Die Verhältnisse in Kürbiskotyledonen werden durch die in Tab. 2 zusammengefaßten Ergebnisse illustriert. Sowohl Uratoxidase als auch Allantoinase wurden zum überwiegenden Teil im Überstand der Rohmitochondrienfraktion gefunden. Nur 26% der Uratoxidase und 10% der Allantoinase befanden sich im 10 000 g-Niederschlag. In beiden Fällen hingegen war der größte Teil der partikelgebundenen Aktivität in der Glyoxysomenfraktion lokalisiert. Allantoinase konnte in keiner der Fraktionen nachgewiesen werden.

Tabelle 3. Uratoxidase- und Allantoinaseaktivität in subzellulären Fraktionen aus Erbsenkotyledonen (aus 100 g Keimblättern)

	Uratoxidase (mU)	Allantoinase (mU)
10 000 g-Niederschlag	860	117
10 000 g-Überstand	570	132
Mitochondrien	21	8
Peroxisomen	235	40
„Proteinkörper“	10	0

Tab. 3 gibt die Ergebnisse der Untersuchungen über die Verteilung der Purinstoffwechsellzyme in Erbsenkeimblättern wieder. Hier wurden höhere Anteile der Uratoxidase und Allantoinase in der Partikelfraktion gefunden, nämlich 60% der Uratoxidase und 47% der Allantoinase. In

beiden Fällen ist die in den Gradientenfraktionen wiedergefundene Aktivität im Vergleich zu der Aktivität in der Rohpartikelfraktion ziemlich niedrig. Da der Rest der Aktivitäten aber auch in allen anderen Teilen des Gradienten nicht nachgewiesen werden konnte, kann man schließen, daß die beiden Enzyme unter den Bedingungen der Gradientenzentrifugation einen relativ starken Aktivitätsverlust erleiden. Bei beiden Enzymen wurde der größte Teil der in den Gradientenfraktionen nachgewiesenen Aktivität in der Peroxisomenfraktion gefunden. Wie bei Kürbissamen konnte auch hier Allantoicase in keiner der Fraktionen nachgewiesen werden.

Diskussion

Es war der Hauptzweck der vorliegenden Arbeit, Informationen über die intrazelluläre Verteilung von Enzymen des Purinabbaus zu liefern. Dazu war zunächst die Charakterisierung derjenigen Zellorganellen notwendig, von denen vermutet wurde, daß sie diese Enzyme enthalten könnten. Es wurden daher neben den schon früher beschriebenen Kartoffelperoxisomen⁷ die bisher nicht bekannten Peroxisomen aus Kürbis- und Erbsenkotyledonen isoliert. Einige charakteristische Eigenschaften dieser subzellulären Partikel wurden festgestellt. Beide Peroxisomenarten besitzen eine Dichte von 1,25 im isopyknischen Saccharosegradienten, beide enthalten einen relativ großen Teil der Katalase des Zellmaterials. In beiden Fällen konnte auch das Vorhandensein von H₂O₂-produzierenden Oxidasen nachgewiesen werden. Die Organellen aus Kürbis enthalten Glykolatoxidase und Uratoxidase, in den Erbsenperoxisomen ist ebenfalls Uratoxidase vorhanden. Zusätzlich konnte jedoch bei den Organellen aus Kürbiskotyledonen gezeigt werden, daß sie die beiden Schlüsselenzyme des Glyoxylatcyclus, Isocitratlyase und Malatsynthase, enthalten, wodurch sie als Glyoxysomen zu klassifizieren sind. In den Erbsenperoxisomen konnten solche Enzyme bis jetzt nicht nachgewiesen werden, wie ja auch Erbsensamen im Vergleich zu Kürbissamen wesentlich fettärmer sind und deshalb in ihnen die Gluconeogenese aus Fetten keine zentrale Bedeutung besitzt. Diese Organellen müssen zweifellos noch näher charakterisiert werden, es scheint aber, daß sie in ihren Eigenschaften eher den Peroxisomen aus Kartoffeln analog sind als den Glyoxysomen. Während der Drucklegung ist es gelungen, Malatsynthase in Erbsenperoxisomen nachzuweisen. Obwohl ein Nachweis von Isocitratlyase in den Organellen noch immer nicht möglich war, macht es der Befund sehr wahrscheinlich, daß diese Peroxisomen als Glyoxysomen zu klassifizieren sind.

Bei der Verteilung der Enzyme des Purinabbaus auf die verschiedenen subzellulären Fraktionen zeigten sich große Unterschiede. In

Erbsen wurden große Teile der Aktivität von Uratoxidase und Allantoinase in der Rohmitochondrienfraktion und davon wieder der größte Teil in den Peroxisomen gefunden. In Kürbiskotyledonon war der Prozentsatz der partikelgebundenen Aktivitäten wesentlich niedriger. In Kartoffeln wieder wurde zwar ein großer Teil der Uratoxidase in den Peroxisomen nachgewiesen, Allantoinase und Allantoicase hingegen waren nur in der löslichen Fraktion zu finden.

Es erhebt sich nun die Frage, ob und wieweit diese in isolierten subzellulären Fraktionen gefundenen Aktivitäten die tatsächliche intrazelluläre Verteilung der Enzyme widerspiegeln. Die Lokalisation zumindest eines Teils der Purinstoffwechsellzyme in den Peroxisomen scheint außer Zweifel zu stehen. Zu dem in der löslichen Fraktion gefundenen Anteil muß festgestellt werden, daß zweifellos bei der Isolierung ein größerer Teil der sehr labilen Organellen zerstört wird. Es wurde ja auch ein großer Teil der Katalaseaktivität in der löslichen Fraktion gefunden, obwohl dieses Enzym wahrscheinlich ausschließlich in den Peroxisomen lokalisiert ist. Außerdem ist schon in anderen Fällen gezeigt worden, daß bestimmte Enzyme aus Peroxisomen selektiv solubilisiert werden können. So wurden z. B. in dieser Arbeit 31% eines Glyoxysomenenzym, der Isocitratlyase, in der Rohmitochondrienfraktion gefunden. Bei einer relativ kleinen Modifikation des Isolierungsmediums sinkt der partikelgebundene Anteil auf Null. Ein solches Verhalten ist eigentlich schwer zu verstehen, wenn man bedenkt, daß es auch bei Peroxisomenarten gefunden wird, die in ihrem Innern keine im Elektronenmikroskop erkennbaren Unterstrukturen besitzen. Diese Organellen müssen also eine räumliche Ordnung aufweisen, die mit derartigen Methoden nicht zu erkennen ist. Auf Grund dieser Eigenschaft der Peroxisomen besteht durchaus die allerdings noch unbewiesene Möglichkeit, daß alle untersuchten Enzyme des Purinabbaus *in vivo* vollständig in den Organellen lokalisiert sind. Leider ist es wegen der großen Labilität der Peroxisomen bis jetzt nicht möglich gewesen, Isolierungsbedingungen zu finden, unter denen diese Organellen intakt erhalten werden können. Mit einiger Sicherheit kann aber eine große Rolle der Peroxisomen im Stoffwechsel von Purinen postuliert werden.

In diesem Zusammenhang erhebt sich die Frage nach der biochemischen Funktion jener pflanzlichen Peroxisomen, für die zum Unterschied von Glyoxysomen und Blattperoxisomen bisher noch keine zentrale Stoffwechselfunktion gefunden wurde. Der einzige Stoffwechselweg, der in diesen und auch in verschiedenen tierischen Peroxisomen gefunden wurde, ist der Purinabbau. Zumindest ein Enzym dieses Wegs, Uratoxidase, wurde in fast allen bisher charakterisierten Peroxisomenarten nachgewiesen. Dieses Enzym wird häufig von Allantoinase begleitet, wie auch in der vorliegenden Arbeit gezeigt wurde. Da auch Xanthin-

dehydrogenase, die in Vögeln die Funktion der Xanthinoxidase übernimmt, in Peroxisomen aus der Leber und den Nieren von Hühnern nachgewiesen worden ist¹³, sind vielleicht die Enzyme dieses Stoffwechselwegs konstitutiv in allen Peroxisomen vorhanden, während z. B. Glyoxylatcyclus und Glycolatstoffwechsel nur in den Peroxisomen von bestimmten spezialisierten Zelltypen induziert werden.

Wie schon *de Duve*¹⁴ festgestellt hat, ist es sehr auffällig, daß Glyoxylat an allen drei bisher in Peroxisomen nachgewiesenen Stoffwechselwegen beteiligt ist, nämlich am Glyoxylatcyclus, am Glykolatweg und am Purinabbau. Nach den Vorstellungen dieses Autors enthielt eine entwicklungsgeschichtlich ältere Form der Peroxisomen eine Reihe von Stoffwechselwegen, an denen Glyoxylat gewissermaßen als Drehscheibe beteiligt war. Heute sind in verschiedenen differenzierten Zelltypen nur mehr Teile dieses Systems verwirklicht. Das in dieser Arbeit gezeigte Vorkommen von Purinstoffwechsellzymen in verschiedenen Arten von pflanzlichen Peroxisomen steht im Einklang mit dieser Theorie.

Die vorliegende Arbeit wurde von der Ludwig Boltzmann-Gesellschaft, Wien, in dankenswerter Weise unterstützt. Herrn Prof. Dr. *O. Hoffmann-Ostenhof* danke ich für hilfreiche Diskussionen und für die Durchsicht des Manuskripts.

Literatur

- ¹ *A. Nemeč*, *Biochem. Z.* **112**, 286 (1920).
- ² *R. R. Theimer* und *H. Beevers*, *Plant Physiol.* **47**, 246 (1971).
- ³ *W. Franke*, in: *Hoppe-Seyler, Thierfelder*, Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-Chemischen Analyse, Bd. 6, S. 368. Berlin-Heidelberg-New York: Springer. 1966.
- ⁴ *P. Baudhuin*, *M. Müller*, *B. Poole* und *C. de Duve*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **20**, 53 (1965).
- ⁵ *A. J. St. Angelo* und *R. L. Ory*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **40**, 290 (1970).
- ⁶ *L. Visentin* und *J. Allen*, *Science* **163**, 1463 (1969).
- ⁷ *H. Ruis*, *Z. Physiol. Chem.* **352**, 1105 (1971).
- ⁸ *F. Trijbels* und *G. D. Vogels*, *Biochem. Biophys. Acta* **113**, 292 (1966).
- ⁹ *H. U. Bergmeyer*, *K. Gawehn* und *M. Graßl*, in: *H. U. Bergmeyer*, Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl., S. 388. Weinheim: Verlag Chemie. 1970.
- ¹⁰ *T. G. Cooper* und *H. Beevers*, *J. Biol. Chem.* **244**, 3507 (1969).
- ¹¹ *A. L. Baker* und *N. E. Tolbert*, *Meth. in Enzymol.* **9**, 338 (1966).
- ¹² *O. H. Lowry*, *M. J. Rosebrough*, *A. L. Farr* und *R. J. Randall*, *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- ¹³ *P. J. Scott*, *L. P. Visentin* und *J. M. Allen*, *Ann. New York Acad. Sci.* **168**, 244 (1969).
- ¹⁴ *C. de Duve*, *Ann. New York Acad. Sci.* **168**, 369 (1969).