

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 621—625, November 1970

K-Transport und Stoffwechsel von Mg-arm gewachsenen Yoshida-Ascitestumorzellen

Von TH. GÜNTHER und R. AVERDUNK

*Aus dem Physiologisch-chemischen Institut und dem Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie
der Freien Universität Berlin*

(Eingegangen am 30. Juli 1970)

An Mg-arm gewachsenen Yoshida-Ascitestumor-Zellen waren Atmung, Glykolyse, ATP-Gehalt und Aktivität der Na-K-aktivierbaren Membran-ATPase unverändert.

Die intrazelluläre K-Konzentration hat infolge eines erhöhten K-Efflux abgenommen. Intrazelluläres K war im Verhältnis 2:1 durch Na ersetzt.

Die im Mg-Mangel reduzierte Einbaurrate markierter Bausteine in RNA, DNA und Protein wird auf die veränderte intrazelluläre K- und Na-Konzentration zurückgeführt.

Die Ursachen für die Änderung der intrazellulären Alkaliionenkonzentration werden diskutiert.

The transport of potassium and the metabolism in Mg-deficient Yoshida-Ascites tumour cells

In Mg-deficient Yoshida-Ascites tumour cells, respiration, glycolysis, ATP concentration and the activity of the Na-K-activated membrane ATPase were unchanged.

There was a decreased concentration of intracellular K, caused by an increased K efflux. Intracellular K was replaced by Na, giving a ratio of 2:1.

The reduced rate of synthesis of RNA, DNA and protein in Mg-deficiency is due to the changed intracellular K-Na-concentration.

The reasons for the change of intracellular alkali ion concentration are discussed.

Bei Mg-arm gewachsenen Bakterien, die einen stark verminderten Mg-Gehalt aufwiesen, war u. a. das Enzymmuster verändert (1) und die intrazelluläre K-Konzentration (2) herabgesetzt. Bei jungen, wachsenden Ratten wurde nach Mg-ärmer Ernährung ebenfalls eine Änderung im Enzymmuster und eine geringe Abnahme der intrazellulären K-Konzentration (3, 4) festgestellt, obgleich der Mg-Gehalt in einigen Organen nur wenig oder gar nicht erniedrigt war. An Rattenembryonen, deren Mütter Mg-arm ernährt wurden, war der Mg- und K-Gehalt wesentlich stärker herabgesetzt (5). Die Abnahme der intrazellulären K-Konzentration im Mg-Mangel verhält sich also proportional der Wachstumsgeschwindigkeit. Auf welche Weise die Abnahme der K-Konzentration im Mg-Mangel zustande kommt, ist nicht bekannt. Da für den aktiven K-Transport Energie bzw. ATP und bei eukaryotischen Zellen eine Na-K-aktivierbare Mg-abhängige ATPase erforderlich ist, untersuchten wir diese Beziehungen an schnell wachsenden Yoshida-Zellen, die in Mg-armem Medium gezüchtet worden waren.

Methoden

Yoshida-Ascitestumorzellen wurden in Suspension (6) in Eagle-Medium (7), dem 10% (v/v) Mg-frei dialysiertes Kälberserum und 5% (v/v) fötales Kälberserum (Rehartin F) zugegeben wurde, gezüchtet. Bei den Mg-Mangel-Zellen wurde das MgCl₂ des Eagle-Mediums durch eine äquivalente Menge NaCl ersetzt. Die Mg-Konzentration im Mg-armen Medium betrug 0,18 mMol/l, im normalen Medium 1,0 mMol/l.

Es wurden 1,6—2,4 · 10⁶ Zellen in 20 ml Kulturmedium in Luft/CO₂ (95:5, v/v) angesetzt. Nach jeweils 3 Tagen Inkubation

bei 37° wurden die Zellen abzentrifugiert und in frischem Medium weiterinkubiert. Die Menge des Wachstumsmediums wurde dabei der Zellzahl proportional erhöht.

Zur Bestimmung der abgestorbenen Zellen haben wir 0,2 ml Zellsuspension mit 0,1 ml einer frisch bereiteten Trypanblau-Lösung (1 g/100 ml 0,15M NaCl) versetzt und den Prozentsatz der blau gefärbten Zellen nach 30 Min. im Mikroskop ausgezählt (8). Die Zellkonzentrationen haben wir mit dem Coulter Counter Mod. B ermittelt.

Zur Bestimmung des Na-K-Gehaltes wurden die Zellen durch 10 Min. Zentrifugieren bei 70 g vom Kulturmedium abgetrennt, mit 0,1M MgCl₂ gewaschen, wozu 5 Min. bei 25 g und 3 Min. bei 1700 g zentrifugiert wurde, und gefriergetrocknet. Nach Veraschen mit konz. HNO₃ wurde der Na- und K-Gehalt flammenspektrometrisch bestimmt.

Der Mg- und Ca-Gehalt wurde nach Waschen in 0,15M NaCl und Enteiweißen mit 10proz. Trichloressigsäure bestimmt. Mg wurde nach Zugabe von 0,1% La (als LaCl₃) im Atomabsorptionsspektrophotometer gemessen, Ca durch photometrische Titration mit EDTA (9) ermittelt.

Der Ansatz zur Bestimmung der ATPase-Aktivität der Zellmembranen enthielt in 1 ml 0,1M Imidazolpuffer pH 7,5:

5 μMol ATP, 5 μMol MgCl₂, 100 μMol NaCl, 20 μMol KCl und etwa 10 μg Membranpräparation. Die Na-K-unabhängige Mg-ATPase wurde in Gegenwart von 0,1 mM Ouabain getestet. Für die Membranpräparation wurden die Zellen einmal mit 0,15M NaCl, 5 mM Tris pH 7,4, 0,2 mM Mg SO₄ gewaschen und in der gleichen Lösung in 2proz. Zellsuspension im Ribi-Zellfraktionator mit 200000 pounds/square inch bei 2—8° aufgebrochen. Zum Zellhomogenat haben wir 1 mM EDTA zugegeben und bei 100000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde 1 Std. bei 100000 g zentrifugiert, einmal mit 0,25M Rohrzucker — 1 mM Imidazol pH 7,5 — 1 mM EDTA und anschließend zweimal in 1 mM Imidazol — 1 mM EDTA gewaschen.

Die ATPase-Reaktion wurde mit ATP gestartet, 20 bzw. 40 Min. bei 30° unter Schütteln inkubiert und mit 0,5 ml 10proz. Trichloressigsäure gestoppt. In 0,5 ml des Trichloressigsäure-Überstandes wurde P_i nach FISKE und SUBBAROW (10), im Trichloressigsäure-Sediment das Protein nach LOWRY u. Mitarb. (11) ermittelt.

Der Sauerstoffverbrauch der Zellen wurde in Eagle-Medium mit 5% fötalem Kälberserum direkt manometrisch gemessen.

Glucose bestimmten wir mit Glucoseoxydase, ATP und Lactat im UV-Test (Fa. Boehringer, Mannheim).

Der Einbau von ^3H -Thymidin in DNA, ^3H -Uridin in RNA und von ^{14}C -Leucin in Protein wurde im gleichen Ansatz von 2,5 ml während zweistündiger Inkubation unter Zugabe von 0,1 μC ^3H -Thymidin, 0,1 μC ^3H -Uridin und 0,04 μC ^{14}C -Leucin gemessen (12). Nach Stoppen der Reaktion mit 10proz. Trichloressigsäure wurde die RNA durch 20 Min. Hydrolyse mit 0,1M NaOH bei 70° abgetrennt. Anschließend fällten wir Protein und DNA mit kalter 10N Trichloressigsäure. Die DNA wurde 15 Min. in 10proz. Trichloressigsäure bei 90° hydrolysiert und mit Äther ausgeschüttelt. Das verbleibende Protein wurde in 0,1N NaOH gelöst. In aliquoten Teilen der einzelnen Fraktionen wurde die ^3H - bzw. ^{14}C -Aktivität im Tri-Carb-Spektrometer gemessen.

Zur Bestimmung der ^{42}K -Aufnahme wurden beide Zellarten in Eagle-Medium mit 10% Kälberserum inkubiert. Die Zellkonzentration betrug $6 \cdot 10^6$ Zellen pro ml. Die Aufnahme wurde durch Zugabe von 30 μC ^{42}KCl /10 ml (spezifische Aktivität: 5 mC/200 mg KCl) gestartet. Zu den angegebenen Zeiten wurde 1 ml der Zellsuspension durch Membranfilter (Porenweite 2,4 μm , Fa. Sartorius) gesaugt und einmal mit 5 ml kalter 0,15M NaCl gewaschen. Filter und Zellen wurden in NaOH unter Erwärmen gelöst.

Zur Bestimmung der ^{42}K -Abgabe wurden die Zellen 2 Stdn. mit 30 μC ^{42}K /10 ml Suspension in Eagle-Medium vorinkubiert, mit 0,15M NaCl gewaschen und in Eagle-Medium reinkubiert. Zu verschiedenen Zeiten wurde 1 ml durch Membranfilter abgesaugt. In aliquoten Teilen wurde die Aktivität im γ -Spektrometer (Perkin-Elmer) gemessen.

Ergebnisse

Wachstum

Die Zellen der Normalkultur wuchsen bis zum 4. Tag logarithmisch. Ihre Generationszeit betrug etwa 24 Stdn. Zwischen dem 4. und 8. Tag nahm die Zellzahl weiter zu, die Generationszeit ist aber wesentlich länger.

Die Mg-Mangel-Kulturen zeigten nur während der ersten 24 Stdn. logarithmisches Wachstum (Abb. 1). Nach 8 Tagen ist die Zellzahl in der Normalkultur dreimal so hoch wie in der Mg-Mangel-Kultur. Die Wachstumskurven (Abb. 1) sind gut reproduzierbar, wenn die Zellkonzentration bei 10^5 Zellen/ml liegt. Bei höheren Zellkonzentrationen nimmt die Generationszeit schon nach 24 Stdn. zu.

Bei längerer Wachstumsdauer hört die Zellvermehrung in der Mg-armen Kultur nach etwa 12 Tagen auf und die Zellen degenerieren. Die Normalkultur dagegen wächst weiter, wenn auch mit langsamerer Geschwindigkeit.

Die Anzahl der abgestorbenen (Trypanblau-färbbaren) Zellen war unter unseren Versuchsbedingungen in

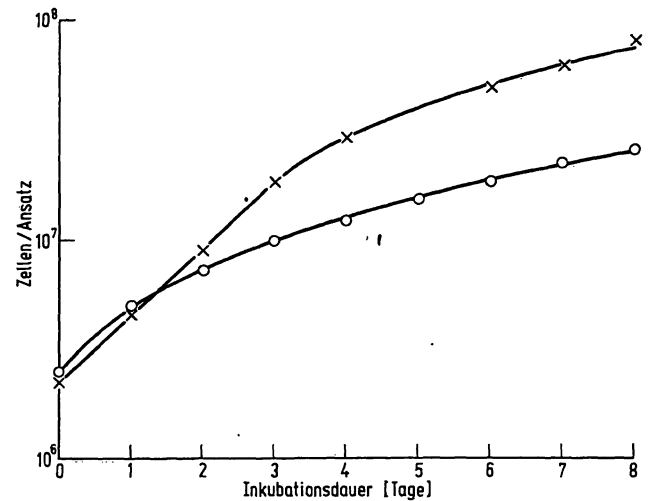


Abb. 1

Wachstumskurve von Yoshida-Zellen in normalem (x) und Mg-armem (o) Eagle-Medium mit 10% Mg-frei dialysiertem Kälberserum und 5% foetalem Kälberserum. Volumen des Ansatzes zu Versuchsbeginn: 20 ml

Tab. 1

Prozentsatz Trypanblau-färbbarer Zellen nach verschieden langem Wachsen in normalem und Mg-armem Medium ($\bar{x} \pm s$ (Standardabweichung))

| Tag | Trypanblau-färbbare Zellen [%] | |
|-----|--------------------------------|--------------------------------|
| | Normalmedium | Mg ⁺⁺ -armes Medium |
| 1 | 2,0 \pm 0,2 | 2,0 \pm 0,2 |
| 2 | 2,0 \pm 0,2 | 2,3 \pm 0,2 |
| 3 | 2,7 \pm 0,5 | 3,1 \pm 0,6 |
| 4 | 2,8 \pm 0,5 | 3,9 \pm 0,7 |
| 5 | 4,1 \pm 0,6 | 5,3 \pm 0,9 |
| 6 | 7,3 \pm 1,6 | 9,4 \pm 1,1 |
| 7 | 10,1 \pm 2,3 | 12,7 \pm 1,3 |
| 8 | 13,5 \pm 3,1 | 16,4 \pm 3,5 |

beiden Kulturen gleich, sie stieg von 2% auf 13 bis 16% (Tab. 1).

Stoffwechsel

Während der 8tägigen Versuchszeit traten in der Atmung, im aeroben Glucoseverbrauch und in der aeroben Lactatbildung bei den Kontroll- und Mg-Mangel-Zellen keine wesentlichen Unterschiede auf (Tab. 2). Damit übereinstimmend war auch der ATP-Gehalt am 8. Tag des Versuchs in beiden Kulturen mit 0,234 μMol ATP/10⁹ Zellen gleich. Die Zellzahl als Bezugssystem ergibt die gleichen Ergebnisse wie andere Bezugssysteme, denn RNA-, DNA- und Proteingehalt pro Zelle zeigten bei normalen und Mg-Mangel-Zellen keinen signifikanten Unterschied.

Tab. 2

Atmung, aerober Glucoseverbrauch und aerobe Lactatbildung von Yoshida-Zellen nach verschieden langem Wachsen in normalem oder Mg-armem Medium ($\bar{x} \pm s$)

| Tag | O ₂ -Verbrauch [$\mu\text{l}/\text{mg TG} \cdot \text{Std.}$] | | Glucoseverbrauch [$\mu\text{Mol}/10^7$ Zellen \cdot Std.] | | Lactatbildung [$\mu\text{Mol}/10^7$ Zellen \cdot Std.] | |
|-----|--|-----------------|--|-----------------|---|-----------------|
| | Normalzellen | Mg-arme Zellen | Normalzellen | Mg-arme Zellen | Normalzellen | Mg-arme Zellen |
| 1 | 7,62 \pm 0,31 | 7,57 \pm 0,34 | 2,40 \pm 0,18 | 2,53 \pm 0,17 | 1,14 \pm 0,09 | 1,24 \pm 0,08 |
| 2 | 7,88 \pm 0,30 | 7,71 \pm 0,36 | 2,36 \pm 0,19 | 2,61 \pm 0,23 | 1,03 \pm 0,08 | 1,13 \pm 0,10 |
| 3 | 7,84 \pm 0,33 | 7,67 \pm 0,31 | 2,44 \pm 0,21 | 2,53 \pm 0,19 | 0,97 \pm 0,09 | 1,13 \pm 0,08 |
| 4 | 7,56 \pm 0,51 | 7,51 \pm 0,39 | 2,29 \pm 0,2 | 2,3 \pm 0,21 | 1,06 \pm 0,06 | 1,15 \pm 0,08 |
| 6 | 7,31 \pm 0,36 | 7,23 \pm 0,36 | 2,05 \pm 0,11 | 2,30 \pm 0,17 | 0,88 \pm 0,08 | 1,13 \pm 0,07 |
| 8 | 7,20 \pm 0,34 | 7,04 \pm 0,31 | 1,84 \pm 0,1 | 2,19 \pm 0,16 | 0,65 \pm 0,05 | 1,02 \pm 0,09 |

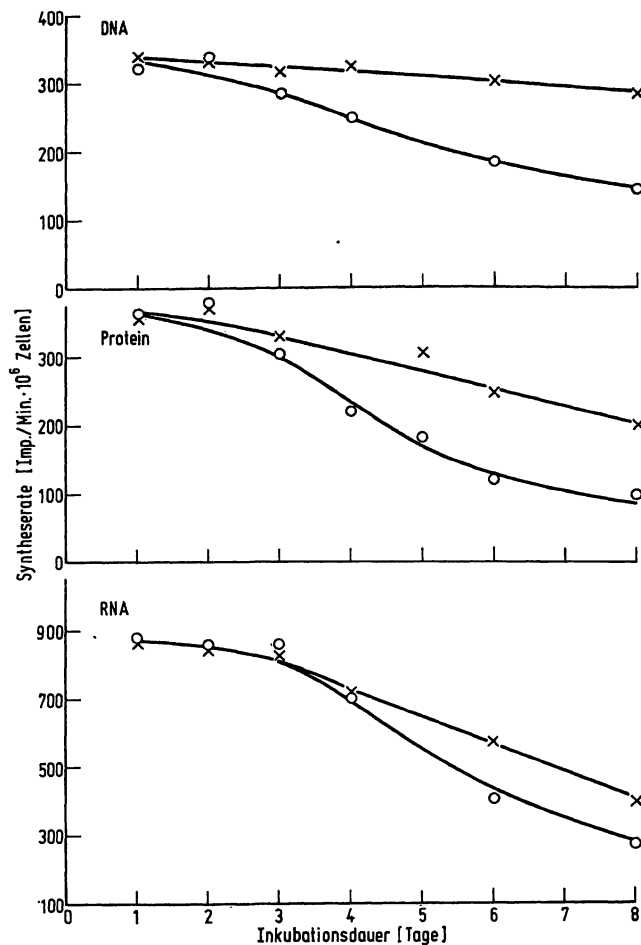


Abb. 2

Einbau von ³H-Thymidin, ¹⁴C-Leucin und ³H-Uridin in DNA, Protein und RNA von Yoshida-Zellen nach verschieden langem Wachstum in normalem (x) bzw. Mg-armem (o) Medium

Der Einbau von Thymidin, Uridin und Leucin in DNA, RNA bzw. Protein ist bei den Mg-Mangel-Kulturen nach dem 3. Tag deutlich niedriger als bei den Kontrollen und nimmt mit zunehmender Versuchsdauer bei den Mg-armen Zellen wesentlich stärker ab als bei den Kontrollen (Abb. 2). Die Abnahmen sind vor allem bei den Kontrollzellen z. T. durch die bei beiden Zellarten gleichgroße Absterberate bedingt. Der Einbau in DNA und Protein ist am 8. Tag um 50% vermindert. Die Abnahme des Uridin-Einbaus in RNA ist wesentlich geringer. Das gleiche Ergebnis fand auch LUBIN (13) an Sarkomzellen, die durch Behandlung mit Amphotericin B an K verarmt waren.

K-Transport

Bei den Kontrollzellen bleibt der intrazelluläre Na-, K- und Mg-Gehalt während des Versuchs konstant. Bei den im Mg-armen Medium wachsenden Zellen dagegen nimmt die intrazelluläre K-Konzentration besonders nach dem 3. Tag stark ab (s. Abb. 3).

Die intrazelluläre Na-Konzentration verhält sich reziprok. Wenn beim Abtrennen des extrazellulären Na und K durch Waschen mit 0,1M MgCl₂ keine Ver-

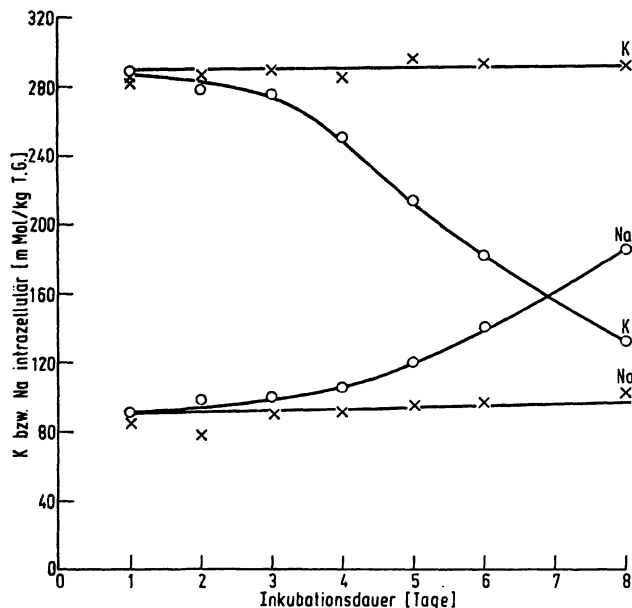


Abb. 3

Intrazellulärer Na- und K-Gehalt von Yoshida-Zellen während des Wachstums in normalem (x) und Mg-armem (o) Medium, bezogen auf Trockensubstanz (T. S.)

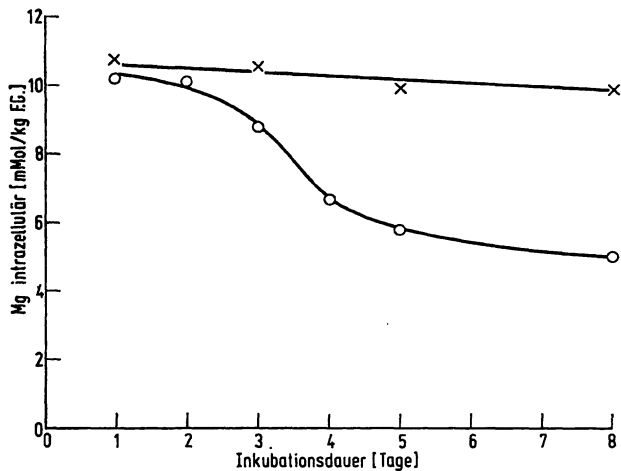


Abb. 4

Intrazellulärer Mg-Gehalt von Yoshida-Zellen während des Wachstums in normalem (x) und Mg-armem (o) Medium, bezogen auf Feuchtgewicht (F. G.)

fälschung eintritt, dann werden beim Verlust von intrazellulärem K jeweils 2 K durch 1 Na ersetzt.

Der intrazelluläre Mg-Gehalt nimmt dem K-Gehalt etwa parallel ab (Abb. 4). Der Ca-Gehalt steigt dabei wie auch in anderen Geweben im Mg-Mangel (14, 15) an, er betrug am 8. Tag bei den Kontrollen 1,1 mMol/kg FG und 2,5 mMol/kg FG bei den Mg-Mangel-Zellen. Als Ursache für den K-Verlust scheidet der Stoffwechsel und ATP-Gehalt aus, da sich diese Größen nicht geändert haben.

Da am Na-K-Transport die Na-K-aktivierbare Mg-abhängige ATPase der Zellmembran beteiligt ist, haben wir deren Aktivität gemessen. Tabelle 3 zeigt, daß sich die durch Na und K aktivierbare und die durch Na und K nicht aktivierbare Komponente der Membran-ATPase ebenfalls nicht geändert haben.

Da die intrazelluläre K-Konzentration im steady state die Summe aus K-Aufnahme und K-Abgabe ist, be-

Tab. 3

ATPase-Aktivität von Yoshida-Zellen, die 8 Tage in normalem bzw. Mg-armem Medium gewachsen sind. 20 und 40 Min. Inkubation bei 30° in 0,1M Imidazolpuffer pH 7,5. ($\bar{x} \pm s$)

| Zellen | $\mu\text{Mol Phosphat/mg Protein}$ | |
|-----------------------------|-------------------------------------|------------------|
| | nach 20 Min. | nach 40 Min. |
| a) Normalzellen | | |
| Mg-ATPase | 0,42 \pm 0,030 | 0,76 \pm 0,057 |
| Na-K-Mg-ATPase | 0,72 \pm 0,062 | 0,94 \pm 0,081 |
| b) Mg-arm gewachsene Zellen | | |
| Mg-ATPase | 0,49 \pm 0,034 | 0,75 \pm 0,051 |
| Na-K-Mg-ATPase | 0,69 \pm 0,041 | 1,03 \pm 0,091 |

stimmt die Geschwindigkeit, mit der ^{42}K aufgenommen bzw. abgegeben wird. Aus den Abbildungen 5 und 6 geht hervor, daß bei Mg-arm gewachsenen Zellen der Austritt von ^{42}K stark erhöht ist.

Dieser Effekt ist nicht direkt auf den geringeren Mg-Gehalt der Mg-armen Zellen zurückzuführen, denn zur Messung der ^{42}K -Aufnahme und ^{42}K -Abgabe wurden die Zellen in Mg-reichem Medium inkubiert. Die steady state-Konzentration an K normalisierte sich erst, wenn die Mg-armen Zellen in Mg-reichem Eagle-

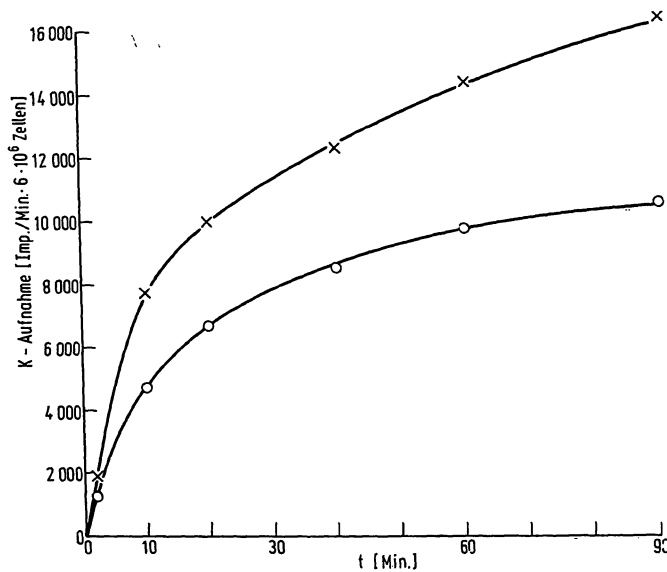


Abb. 5

^{42}K -Aufnahme in Yoshida-Zellen. Die Zellen waren 8 Tage in normalem (x) bzw. Mg-armem (o) Medium gewachsen und in (Mg-reichem) Eagle-Medium bei 37° in einer Zellkonzentration von $6 \cdot 10^6$ Zellen/ml inkubiert worden. Start durch Zugabe von $3 \mu\text{C } ^{42}\text{K/ml}$. 1 ml Zellsuspension wurde durch Membranfilter gesaugt und einmal mit kalter 0,15M NaCl gewaschen

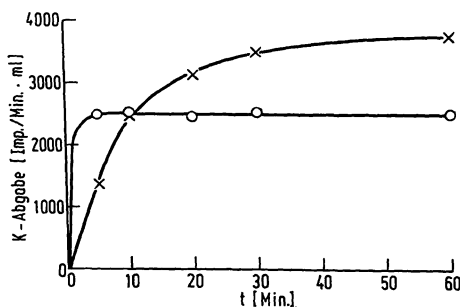


Abb. 6

^{42}K -Abgabe von Yoshida-Zellen. 8 Tage in normalem (x) und Mg-armem (o) Medium gewachsene Zellen wurden in Eagle-Medium 2 Stdn. bei 37° mit $3 \mu\text{C } ^{42}\text{K/ml}$ inkubiert, einmal mit 0,15M NaCl gewaschen und in Eagle-Medium in einer Zellkonzentration von $3 \cdot 10^6$ Zellen/ml reinkubiert. Je 1 ml Suspension wurde durch Membranfilter gesaugt. Aktivitätsmessung in 0,5 ml Filtrat

Medium weitergezüchtet wurden. In derartigen Versuchen betrug der intrazelluläre K-Gehalt nach 8tägigem Wachsen in Mg-armem Medium in Übereinstimmung mit Abbildung 3 118 mMol/kg Trockensubstanz. Nach 18stündigem Wachsen in normalem Eagle-Medium war der K-Gehalt auf 227 mMol/kg angestiegen.

Diskussion

Aus den Abbildungen 5 und 6 sowie aus der Kompartimentanalyse (16) der ^{42}K -Aufnahme und der ^{42}K -Abgabe ergibt sich, daß die Geschwindigkeitskonstante für den K-Influx bei beiden Zellarten etwa gleich ist, die Geschwindigkeitskonstante für den K-Efflux ist bei den Mg-arm gewachsenen Zellen wesentlich größer. Die niedrigere steady state-Konzentration des intrazellulären K bei den Mg-armen Zellen läßt sich somit auf eine vermehrte K-Abgabe aus den Zellen bei unverändertem aktiven Transport von K in die Zellen zurückführen. Damit übereinstimmend waren auch der Energiestoffwechsel und ATP-Gehalt sowie die Energieverwertung für den aktiven Transport, die durch die Na-K-aktivierbare Membran-ATPase bewirkt wird, unverändert.

Für die vermehrte Abgabe von K aus der Zelle ist wahrscheinlich das Fehlen eines Proteins verantwortlich, denn Reinkubation in Mg-reichem Medium allein führt zu keiner Normalisierung des K-Gehalts. Diese tritt erst ein, wenn die Zellen wieder in normalem Mg-reichem Medium gewachsen sind. Das gleiche haben wir früher bei *E. coli* gefunden (2).

Da die erniedrigte intrazelluläre K-Konzentration auch an Zellen gefunden wurde, deren Mg-Gehalt nur wenig erniedrigt war (3), und da die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität auch bei starker Abnahme des Gesamt-Mg-Gehalts nahezu konstant bleibt (17), können die Abnahme der intrazellulären K-Konzentration sowie die Änderung des Enzymmusters (4) und die bei Mg-arm ernährten Tieren selektiv verringerte, an membran-gebundenen Ribosomen erfolgende Albuminsynthese (18) nicht auf eine verminderte intrazelluläre Mg-Ionenaktivität zurückgeführt werden.

Die Abnahme der DNA und Proteinsynthese geht der Abnahme der intrazellulären K-Konzentration parallel. Es kann daraus geschlossen werden, daß die verminderte intrazelluläre K-Konzentration bzw. die Abnahme des K/Na-Quotienten in der Zelle die Synthese von DNA und Protein hemmt. Eine indirekte Wirkung infolge einer verringerten Glykolyse oder ATP-Verwertung kann — im Gegensatz zu Versuchen an *E. coli* — ausgeschlossen werden.

Mg-Mangel wäre daher neben Amphotericin B- oder Histon-Zugabe (13) ein weiteres Beispiel, daß eine verminderte intrazelluläre K-Konzentration die Synthese von Makromolekülen beeinträchtigt.

Wenn der vermehrte K-Verlust aus der Zelle im Mg-Mangel durch das Fehlen eines Proteins hervorgerufen wird, stellt sich die Frage nach der auslösenden Ursache. Diese ist wahrscheinlich die verminderte extrazelluläre

Mg-Konzentration. Bei einer Abnahme des extrazellulären Mg werden Mg-Komplexe der Zellmembran Mg abdissoziieren. Die Folgen könnten sein:

1. Von der Zellmembran kann ein Protein, das die Membran für Alkaliionen „abdichtet“, abgelöst werden. Bei der Reparatur nach Wachsen in Mg-reichem Medium kann dieses neugebildete Protein durch Mg wieder an die Membran gebunden werden.

2. Die Zelle könnte im Mg-armen Medium etwas K verlieren, so daß sekundär ein Protein, das für die Erhaltung eines hohen K/Na-Gradienten nötig ist, nicht mehr in ausreichender Menge gebildet wird. Die intrazelluläre K-Konzentration würde dadurch weiter abnehmen. Die Abnahme der Proteinsyntheserate kann

nach LUBIN (13) schon durch eine geringe Abnahme der intrazellulären K-Konzentration ausgelöst werden.

Eine andere Möglichkeit, die einen vermehrten K-Efflux erklären kann, ist die Zunahme des intrazellulären Ca-Gehaltes bei den Mg-Mangel-Zellen. Eine Erhöhung des intrazellulären Ca soll (in ungeklärter Weise) zu einer erhöhten passiven Permeabilität für K und in geringerem Maße für Na führen (19, 20). Es wäre aber auch möglich, daß die Permeabilität für Ca aus dem gleichen Grunde wie für K und Na erhöht und dadurch Ca vermehrt in die Zelle diffundiert ist.

Die erwähnten Möglichkeiten brauchen einander nicht auszuschließen, sondern können kombiniert auftreten und sich ergänzen.

Literatur

1. GÜNTHER, TH. und P. MARISS, *Z. Naturforsch.* 23b, 338 (1968).
2. GÜNTHER, TH. und P. MARISS, *Z. Naturforsch.* 23b, 334 (1968).
3. GÜNTHER, TH., *diese Z.* 8, 65 (1970). — 4. GÜNTHER, TH., *diese Z.* 8, 69 (1970). — 5. GÜNTHER, TH. unveröffentlicht. — 6. AVERDUNK, R. und H. VOSS, *Zbl. Bakteriol. I. Orig.* 207, 265 (1968). — 7. EAGLE, H., *Science Washington* 130, 432 (1959). — 8. KISSMEYER-NILSON und K. E. KJERBYE, *Sympos. Histokomp. Test S.* 381 Munksgard, Kopenhagen (1967). — 9. SIEGMUND P. und H.-J. DULCE, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie* 320, 149 (1960). — 10. FISKE, C. H. und Y. SUBBAROW, *J. biol. Chemistry* 66, 375 (1925). — 11. LOWRY, O. H., N. ROSEBROUGH, A. L. FARR und R. J. RANDALL, *J. biol. Chemistry* 193, 265 (1951). —
12. LISS, E., G. PALME und K. OEFF, *Z. Krebsforsch.* 71, 89 (1968). — 13. LUBIN, M., *Nature, London* 213, 451 (1967). — 14. MC INTYRE, I. und D. DAVIDSON, *Biochem. J.* 70, 456 (1958).
15. MARTINDALE, L. und F. W. HEATON, *Biochem. J.* 92, 119 (1964). — 16. ATKINS, G. L., *Multicompartment Models for Biological Systems*, S. 19ff. Methuen and Company Ltd. London (1969). — 17. GÜNTHER, TH. und F. DORN, *Z. Naturforsch.* 24b, 713 (1969). — 18. SCHWARTZ, R., N. A. WOODCOLK, J. D. BLAKELY, F. L. WANG und E. A. KHAIRALLAH, *J. Nutrition* 100, 123 (1970). — 19. WHITTAM, R., *Nature, London* 219, 610 (1968).
20. VAN ROSSUM, G. D. V., *Nature, London* 225, 638 (1970).

Prof. Dr. Th. Günther
1000 Berlin 33
Arminiallee 22