

Die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität in verschiedenen Säugetierzellen

The intracellular Mg ion activity in different
mammal cells

TH. GÜNTHER und F. DORN

Zentralinstitut für Biochemie und Biophysik der Freien Uni-
versität Berlin

(Z. Naturforsch. 26 b, 176–177 [1971]; eingegangen am 5. November 1970)

In einer früheren Mitteilung¹ wurde die intrazelluläre Mg-Ionenkonzentration tierischer Zellen mit Hilfe der Aktivierbarkeit der Isocitronensäuredehydrogenase (ICDH) durch Mg-Ionen ermittelt. Dabei wurde die Aktivierung der ICDH bei bekannten Mg-Ionenkonzentrationen mit der Aktivierung der ICDH durch Mg-Ionen in Gewebsaufschlüssen verglichen. Im Meßansatz (optischer Test) erfolgte zwangsläufig eine starke Verdünnung des Homogenats, die durch Extrapolation ausgeglichen werden mußte. Dabei sind Ungenauigkeiten nicht auszuschließen.

Die Entwicklung von Elektroden, die für bivalente Kationen spezifisch sind, ermöglicht die Messung der Mg-Ionenaktivität in unverdünnten Zellaufschlüssen. Die Kenntnis der intrazellulären Mg-Ionenaktivität ist jedoch nötig, um die Rolle des Mg bei den verschiedenen Mg-abhängigen Stoffwechselfunktionen in der Zelle quantitativ zu beschreiben.

Methode

Für die Versuche verwendeten wir etwa 250 g schwere, männliche Wistarratten und Ehrlich-Mäuseascitestumor-Zellen 10 Tage nach intraperitonealer Inokulation. Die Zellen und Gewebe wurden den Ratten in Äthernarkose, den Mäusen nach Dekapitation entnommen und durch viermaliges Einfrieren in flüssigem N₂ und Auftauen (Gefrieraufschluß) aufgeschlossen. In Kontrollversuchen wurden die Lebern zur Entfernung des extrazellulären Ca und Mg vor dem Gefrieraufschluß von der vena portae mit kalter 150 mM NaCl – 4 mM KCl durchströmt.

Außerdem haben wir Gewebe und Zellsedimente sofort nach der Gewinnung in flüssigem N₂ eingefroren, bei ca. 1 Torr über Silicagel gefriergetrocknet und pulverisiert. Das trockene Pulver wurde mit einer dem Wassergehalt entsprechenden Menge kalten bidest. Wassers versetzt.

Die Zellaufschlüsse wurden 45 Min. bei 0 °C und 70 000 g zentrifugiert. Im Überstand bestimmten wir, wie früher ausführlich beschrieben², mit einer Mg-empfindlichen Elektrode (Modell 92-32, Orion Research Inc., Cambridge, Mass.) die Mg-Ionenaktivität. Zur Eichung nahmen wir MgCl₂-Lösungen, deren Na- und K-Gehalt dem Na- und K-Gehalt der jeweiligen Überstände entsprach.

Ergebnisse und Diskussion

Wie die Tab. zeigt, beträgt die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität in den untersuchten kernhaltigen Säugetierzellen 0,8–1 mMol/l und liegt damit im gleichen Bereich wie bei *E. coli*-Zellen². In Säugetier-Erythrocyten, die bei einem hohen Gehalt an Chelatbildnern (ATP, 2,3-Diphosphoglycerat) einen erheblich geringeren Gesamt-Mg-Gehalt als kernhaltige Zellen aufweisen, ist die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität mit 0,04 mMol/l wesentlich niedriger.

	Behandlung	[Mg ²⁺]-Aktivität [mMol/l]
Leber	Gefrieraufschluß durchströmt	0,92 ± 0,05
	+ Gefrieraufschluß gefriergetrocknet	0,93 ± 0,06
		0,77 ± 0,04
Muskel	gefriergetrocknet	0,96 ± 0,02
Niere	Gefrieraufschluß	1,03 ± 0,06
	gefriergetrocknet	0,86 ± 0,05
Ascites- tumorzellen	Gefrieraufschluß	0,84 ± 0,05
	gefriergetrocknet	0,79 ± 0,04
Erythrocyten (Ratte)	gewaschen	
	+ Gefrieraufschluß	0,04 ± 0,01
	gewaschen + gefriergetrocknet	0,04 ± 0,01

Tab. 1. Mg-Ionenaktivität verschiedener Zellaufschlüsse (Mittelwert ± mittlerer Fehler des Mittelwertes von 10 Tieren).

Entfernen des extrazellulären Ca und Mg durch Durchströmen der Leber hat keinen Einfluß auf die gemessene intrazelluläre Mg-Ionenaktivität. Die Menge an extrazellulären Mg- und Ca-Ionen ist wegen der geringen Menge an extrazellulärer Flüssigkeit und der niedrigen extrazellulären Mg- und Ca-Ionenaktivität infolge einer teilweisen Bindung dieser Ionen an Serumalbumin nicht groß. Außerdem ist die Summe aus extrazellulärer Ca- und Mg-Ionenaktivität etwa so groß wie die gemessene intrazelluläre Mg- (und Ca-) Ionenaktivität. Da sich das intrazelluläre Mg im Puffergleichgewicht befindet³, dürfte sich auch hierdurch die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität beim Aufschließen dieser Zellen nicht wesentlich ändern. Bei Säugetier-Erythrocyten dagegen muß das extrazelluläre Mg und Ca wegen der niedrigen intrazellulären Mg-Ionenaktivität durch Waschen entfernt werden.

Nach sofortigem Einfrieren, Trocknen und Extrahieren war die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität in den kernhaltigen Zellen etwas niedriger. Wahrscheinlich werden bei diesem Zellaufschluß weniger Mg-Chelatbildner (z. B. ATP durch ATPasen) abgebaut. Diese Meßwerte erscheinen daher zuverlässiger. Werden die gefriergetrockneten Proben nur mit einer dem intra-

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. TH. GÜNTHER,
Freie Univ. Berlin, Zentralinstitut für Biochemie und Biophysik,
D-1000 Berlin 33, Animallee 22.

¹ TH. GÜNTHER, Z. Naturforsch. 22 b, 149 [1967].

² TH. GÜNTHER u. F. DORN, Z. Naturforsch. 24 b, 713 [1969].

³ TH. GÜNTHER, Z. Naturforsch. 21 b, 1174 [1966].

zellulären Wassergehalt entsprechenden Menge Wasser extrahiert, dann mißt man um 10% höhere Mg-Ionenaktivitäten, weil durch die resultierende höhere Na- und K-Konzentration in den Zellaufschlüssen Mg²⁺ aus Mg-Chelaten freigesetzt wird.

Die in der Tab. 1 enthaltenen Werte für die intrazelluläre Mg-Ionen-Aktivität sind kleiner als früher mitgeteilte Werte für die Mg-Ionen-Konzentration¹. Berücksichtigt man jedoch bei den damals verwendeten Mg-Eich- und Mg-Meßansätzen mit der Ionenstärke 0,15 M einen Aktivitätskoeffizienten von 0,5–0,6, dann stimmen die Werte gut überein.

Eine niedrige intrazelluläre Mg-Ionenaktivität von Säugetier-Erythrocyten war schon früher aus der Mg-Abhängigkeit ihrer Glykolyserate¹ und mit Hilfe der Mg-Abhängigkeit des Adenylatkinase-Gleichgewichtes abgeleitet worden⁴. So ermittelte ROSE⁴ für die intrazelluläre Mg-Ionen-Konzentration von Erythrocyten einen Wert von 0,13–0,21 mMol/l, der unter Berücksichtigung des (nicht bekannten) Aktivitätskoeffizienten

in Erythrocyten mit der jetzt gemessenen Mg-Ionen-Aktivität vergleichbar ist.

Die verwendete Elektrode spricht auf Ca²⁺ und Mg²⁺ mit gleicher Empfindlichkeit an. Der intrazelluläre Ca-Gehalt der untersuchten Zellen ist infolge eines aktiven Transportes von Ca aus der Zelle^{5, 6} niedrig und beträgt nur ca. 10% des intrazellulären Mg-Gehaltes. Da die Komplexbildungs-Konstanten der intrazellulären Ca- und Mg-Komplexbildner etwa gleich groß sind, dürften die wahren intrazellulären Mg-Ionenaktivitäten im Cytoplasma, wo Ca im Vergleich zu Mitochondrien oder Sarco-plasmatischem Reticulum in geringerer Konzentration vorkommt, um höchstens 10% niedriger sein.

Die gemessenen Werte stellen einen Durchschnitt dar. Eine ungleiche Verteilung des Mg und seiner Chelatbildner in der intakten Zelle infolge ihrer Kompartimentierung bleibt unberücksichtigt. Ein weiterer Fehler kann dadurch entstehen, daß Polyionen des Gewebsaufschlusses das Diffusionspotential des KCl an der Phasengrenze zur Bezugselektrode beeinflussen (Suspensionseffekt)^{7, 8}.

⁴ I. A. ROSE, Proc. nat. Acad. Sci. USA **61**, 1079 [1968].

⁵ H. J. SCHATZMANN, Experientia [Basel] **22**, 364 [1966].

⁶ G. D. V. VAN ROSSUM, J. gen. Physiol. **55**, 18 [1970].

⁷ H. PFISTER u. H. PAULY, Biophysik **6**, 94 [1969].

⁸ K. CAMMANN, Naturwissenschaften **57**, 298 [1970].