

Auch durch Ionenätzung lassen sich extrem dünne Schichten für die elektronenmikroskopische Untersuchung herstellen. *H. Bach* und *E. Zehender* (Stuttgart) fertigten Dünnschliffe von Keramikkörpern an und konnten mit einer Ionenerstreuungsanlage durchstrahlbare Bereiche herstellen. Dabei müssen die Ionen sehr flach auf die Objektoberfläche auftreffen. Durch Drehen des Objektes erreicht man einen ziemlich gleichmäßigen Abtrag. An diesen dünnen Schichten lassen sich der Zustand der Korngrenzen und das in den Korngrenzen angereicherte Flußmittel erkennen. Beugungsaufnahmen gestatten die Identifizierung der Kristallphasen im Bereich der Korngrenzen. Neben amorphem Flußmittel findet man kristalline Verbindungen zwischen Al_2O_3 und dem Flußmittel. Über den Abbau von Glimmer im Elektronenmikroskop berichtete *J. Demny* (Mosbach). Bei der elektronenmikroskopischen Dunkelfeld-Beobachtung dünner Glimmerpräparate erkennt man zahlreiche körnige Gebilde, die als kleine Hohlräume mit Gasfüllung gedeutet werden. Bei Erwärmung (Steigerung der Elektronenstrahlintensität) dehnt sich das Gas aus und gibt Anlaß zu einer Aufspaltung der Glimmerplättchen, was an Moiré-Erscheinungen gezeigt werden kann. Es soll sich dabei um Verkantungsmoirés infolge Wellung der Folien handeln. Entgast man die Glimmerpräparate vor der elektronenmikroskopischen Betrachtung sorgfältig, so verschwindet die körnige Struktur. Wird nun der Strahlstrom erhöht, so bilden sich in der Folie rhombische Löcher mit Begrenzungslinien in <110>-Richtung. Das Material ist monoklin, aber der hexagonalen Struktur sehr ähnlich. Bei weiterer Erhitzung verdampft das Material, und es kondensieren Kristallchen auf den Kontaminationsschichten. Durch Elektronenbeugungsuntersuchungen konnten identifiziert werden: 1. Al_2O_3 , als sechseckige Kristalle, die auf <111>-Ebenen liegen, 2. Sillimanit, als feine Nadeln, die in allen Richtungen liegen, 3. Mikroklin, mit trikliner Struktur und 4. Kalium-Aluminium-Silikat, in Form kleiner Bäumchen mit kubischer Struktur und 7,7 Å Gitterkonstante.

Eine Methode zur Dickenbestimmung kristalliner Objekte durch Kontrastmessungen beschrieb *L. Reimer* (Münster). Versuchsmaterialien waren Sb, Ge, Al_2O_3 und Sb_2S_3 in amorpher Schicht, die nach der ersten Messung durch geeignete Objekterwärmung in diese grobkristalline Phase für eine Vergleichsmessung überführt werden konnten.

Bei Substanzen, die sich nicht in amorpher Phase herstellen lassen, muß für eine Eichmessung eine homogene Schichtdicke vorhanden sein. Im Bereich elektronenmikroskopischer Durchstrahlbarkeit herrscht zwischen Bildkontrast und Schichtdicke Proportionalität, die jedoch bei grob- und ein-

kristallinen Schichten um den Faktor 0,5–0,7 niedriger liegt als bei amorphen und feinkristallinen Schichten gleicher Dicke. Die Einkristall-Lamellen dürfen bei der Messung keine Braggschen Interferenzbänder zeigen.

Arbeiten auf dem Kunststoffgebiet

H. Grothe und *G. Schimmel* (Frankfurt/M.) versuchten, mit Hilfe verschiedener Präparationsmethoden Aussagen über den Aufbau von Polytetrafluoräthylen zu gewinnen. Mit einem Abdruckverfahren gelang es, aus der Oberfläche von kompaktem Material Fasern von ca. 300 Å Durchmesser zu isolieren, die sich in Elektronenbeugungsaufnahmen als Einkristalle erwiesen, wobei gute Übereinstimmung mit röntgenographischen Daten gefunden wurde. Bei langsamer Abkühlung von Temperaturen oberhalb des Erweichungspunktes bis auf Raumtemperatur bilden sich aus den Fasern kristalline Bänder mit einer Breite bis zu einem Mikron. Die Fasern zeigen im Elektronenmikroskop einen rechteckigen oder parallelogrammförmigen Querschnitt und sind aus parallelgerichteten Blättchen aufgebaut. Bei plastischer Verformung können sich die Plättchen gegeneinander verschieben. Die Fasern sitzen relativ locker in der umgebenden Matrix und brechen bei mechanischer Beanspruchung leicht aus. Daher können sie bei reibender Belastung eine quasibewegliche Zwischenschicht bilden. Auf einen möglichen Zusammenhang dieser Schichten mit dem Reibungskoeffizienten von Teflon wurde hingewiesen.

H. Mahl (Oberkochen) berichtete über eine Methode, Acrylharz-Dispersionen mit weichen Partikeln darzustellen. Beim Aufrocknen der Dispersionen neigen die Partikel dazu, zu Fladen zu verlaufen. Durch Zusätze von Schwermetall-Verbindungen (z. B. Uranylacetat) werden die Kunststoffpartikel in der Dispersion so stabilisiert, daß im Aufrocknungspräparat die Partikeln als Kugeln vorliegen und eine exakte Teilchengrößenbestimmung zulassen. Die Methode läßt sich auch auf andere Emulsionen anwenden.

Bei Bestrahlung mit Elektronen verändern sich die optischen Eigenschaften von organischen Folien. *V. Rao* (Tübingen) hat die Änderung der geometrischen Dicke und des Brechungsindex als Funktion der Elektronenstrahlen-Dosis bei Kolloidum- und Methacrylat-Folien gemessen. Aus den erhaltenen Kurven kann die benötigte Strahlendosis zur kornlosen Registrierung von Elektronenbildern abgeschätzt werden. Auch mit Röntgenstrahlen erzeugte Bilder hoher Auflösung können so hergestellt werden.

[VB 754]

Gemeinsame Tagung der deutschen, schweizerischen und französischen Biochemiker

Straßburg (Frankreich), vom 19. bis 21. September 1963

Plenarvorträge

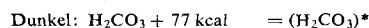
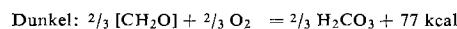
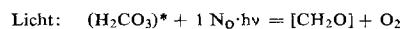
Eröffnet wurde die Tagung mit einem Plenarvortrag von *O. Warburg* (Berlin) über die „Chemie der Photosynthese“. *Warburg* betonte die Bedeutung des Quantenbedarfs (Verhältnis der absorbierten Lichtquanten zu den Molekülen entwickelten Sauerstoffs) als Grundlage der modernen Photosyntheseforschung. Der Quantenbedarf 1 für die Lichtreaktion und der Quantenbedarf 3 für die Gesamtreaktion lassen sich jetzt, nach Entdeckung des „Photolyten“ (auch „aerob fixierte“ oder „aktivierte“ Kohlensäure genannt), auch chemisch beschreiben.

Die aktivierte Kohlensäure wurde entdeckt, als eine Chlorella-Suspension in CO_2 /Argon- bzw. in CO_2 /Luft-Atmo-

sphäre geschüttelt wurde. Nach Zusatz von Fluorwasserstoffsäure entsteht CO_2 , das aus Bicarbonat und aus der α -Carboxylgruppe von Glutaminsäure stammt, bzw. zusätzliches CO_2 , das vom postulierten Photolyten geliefert wird. Die Anhäufung dieser aktivierten Kohlensäure findet im Dunkeln statt; bei Belichtung wird die Verbindung unter stöchiometrischer Entwicklung von Sauerstoff gespalten, wobei sie zur Stufe des Kohlenhydrats reduziert wird. Das bedeutet, daß die Photosynthese eine Photolyse der Kohlensäure umfaßt.

An der Bildung der aktivierten Kohlensäure sind Phosphat und sehr wahrscheinlich Glutaminsäure beteiligt; die aktivierte Kohlensäure ist dissoziierend mit Chlorophyll verbunden. Bei der sich an die Spaltung der aktivierten Kohlensäure anschließenden teilweisen Rückreaktion des Kohlen-

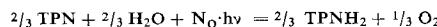
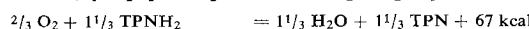
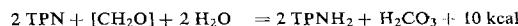
hydrats im Dunkeln wird dieses nach dem allgemeinen Mechanismus der Zellatmung zu CO_2 oxydiert. Die Energie dieser „lichtinduzierten“ Atmung aktiviert dann neues CO_2 .



$(\text{H}_2\text{CO}_3)^*$ = aktivierte Kohlensäure, $[\text{CH}_2\text{O}]$ = Kohlenhydrat

Es spalten also 3 Mol Quanten 1 Mol Kohlensäure. Das eigentliche Ergebnis der Photosynthese ist das nicht zurückreagierende Drittel des Kohlenhydrats.

Die Rückreaktion beginnt damit, daß TPN das Kohlenhydrat zu CO_2 oxydiert; dann wird der Wasserstoff des gebildeten TPNH_2 auf molekularen Sauerstoff übertragen. In Verbindung mit der Spaltung und der Neubildung der aktivierten Kohlensäure ergeben sich folgende Gleichungen:



3 $\text{N}_0 \cdot \text{hv}$ entwickeln also 1 Mol O_2 . Die Bilanzgleichung gibt die Reaktion wieder, die, wie Warburg ausführte, bisher irrtümlich als Photolyse des Wassers mit Hilfe von TPN ge deutet wurde.

In der Diskussion (Leitung: *H. Holzer*, Freiburg) wurde von *A. A. Benson* (La Jolla, USA) auf einige neue Substanzen hingewiesen, die bei der Photosynthese entstehen und in denen sehr rasch ^{14}C aus $^{14}\text{CO}_2$ nachweisbar ist, so u. a. in Galaktolipiden und in Sulfolipiden, deren Bildung auf die Bedeutung der Lipidanteile in den photosynthetisierenden Grana schließen lasse. *R. C. Fuller* (Hanover, USA) diskutierte an Hand von Untersuchungen an Chromatium die Rolle der Carboxydismutase, die wesentlich an der photosynthetischen Fixierung des CO_2 beteiligt sei. Dieses Enzym wird reprimiert, wenn die Bakterien auf Substanzen wachsen, die sich in einem niedrigeren Oxydationszustand als CO_2 befinden (Acetat, Malat); es ist wahrscheinlich, daß während des lichtabhängigen Wachstums auf diesen Substanzen die Aktivität des „Calvin-Cyclus“ stark reduziert ist. Warburg verwies darauf, daß das Enzym auch in Bakterien vorkomme, die nicht zur Photosynthese fähig sind. Holzer betonte, daß die Repression der Carboxydismutase zwar auf ihre Beteiligung an der photosynthetischen CO_2 -Fixierung hinweist, jedoch nichts über den quantitativen Anteil sagt.

Den zweiten Hauptvortrag hielt *B. Jeanrenaud* (Genf, Schweiz) über Wirkungen von Steroidhormonen auf die Lipogenese und Lipolyse in Fettgewebe. Co-Autor war *A. E. Renold* (Boston, USA). Das tierische Fettgewebe hat drei wichtige Funktionen zu erfüllen: die Synthese der langketigen Fettsäuren, die Bildung von Fettsäurereserven in Form von Triglyceriden und die Hydrolyse der Fette (= Lipolyse) zu den als Energiequelle dienenden Fettsäuren und Glycerin. Die beträchtliche Stoffwechselaktivität dieses Gewebes wird hormonell reguliert. Dabei sind zwei Stellen besonders bevorzugt: der Eintritt der Glucose in die Zelle und die Hydrolyse der Triglyceride. Der exakte Mechanismus der Hormon wirkung ist bis jetzt unbekannt, jedoch läßt sich die Wirkung lipogener Hormone (Insulin, Prolactin) und lipolytischer Hormone (Hypophysenhormone, Adrenalin, Noradrenalin, Glucagon) eindeutig unterscheiden. Eine Sonderstellung in der Regulation des Stoffwechsels der Fettgewebezellen kommt den Steroidhormonen zu. Die Vortr., die ihre Untersuchungen hauptsächlich an Nebenhodenfettgewebe von Ratten durchführten, stellten deshalb den vielfältigen Einfluß der Glucocorticoide in den Mittelpunkt ihres Vortrags.

Cortisol und Corticosteron hemmen in physiologischen Konzentrationen die Glucose-Aufnahme in Fettgewebezellen; außerdem werden auch die Oxydation der Glucose und die von der Glucose ausgehende Lipogenese signifikant vermindert. Desoxycorticosteron hemmt weitaus geringer. Insulin macht die Hemmung vollständig rückgängig, ebenso wirken wesentliche Erhöhungen der Glucose-Konzentration. Diese in vitro beobachteten Effekte lassen sich auch in vivo nachweisen. Neben der Hemmung der Lipogenese verursachen die Glucocorticoide, wenn auch in relativ hohen Konzentrationen, eine Beschleunigung der Lipolyse, und zwar direkt und nicht nur im Zusammenwirken mit Adrenalin. Zwischen Lipogenese und Lipolyse besteht ein dynamisches Gleichgewicht.

Für den primären Angriffspunkt der Hormone wurden mehrere Möglichkeiten diskutiert, darunter die denkbare Stimulation eines ATPase-Systems, wodurch die Hemmung der Lipogenese und des Glucose-Umsatzes gemeinsam erklärt werden können. Schließlich wurde über eine den Glucocorticoiden ähnliche Wirkung des Testosterons berichtet.

P. Mandel (Straßburg, Frankreich) sprach über die Regulation der Biosynthese der Ribonucleinsäuren bei höheren Tieren. Der Vortr. und seine Mitarbeiter untersuchten die DNS-abhängige RNS-Polymerase der Zellkerne verschiedener tierischer Gewebe. Die Enzymaktivität wurde jeweils durch die in Ribonucleinsäure eingebaute Menge $^{14}\text{C}-\text{ATP}$, $^{14}\text{C}-\text{UTP}$ und in einigen Fällen auch $^{14}\text{C}-\text{CTP}$ bestimmt. Rattenleber-Zellkerne, die eine besonders hohe Aktivität des Enzyms aufweisen, wurden eingehend untersucht. Nach 70-proz. Hepatektomie ließ sich in den regenerierenden Zellen eine Zunahme der RNS-Polymerase-Aktivität auf mehr als das Doppelte nach 12 Std. feststellen. Diese Zunahme geht der auf eine Hepatektomie folgenden Stimulation der Proteinsynthese um einige Stunden voraus. Da Östradiol nach früheren Befunden an Vogellebern die Proteinsynthese beschleunigt, wurde geprüft, ob dieses Hormon auch die DNS-abhängige RNS-Polymerase beeinflußt. Untersucht wurden Leberzellkerne von jungen Hühnern. Tatsächlich war bei Tieren, denen Östradiolbenzoat injiziert worden war, schon nach 24 Std. ein signifikanter Anstieg der RNS-Polymerase zu erkennen, der sich über Tage fortsetzte. Das frühe Auftreten der Aktivitätssteigerung nach Östradiol wurde als mögliche Stimulation der messenger-RNS-Synthese gedeutet. Eine Änderung in der Zusammensetzung der nach der Östradiolgabe synthetisierten RNS gegenüber der normalen war nicht festzustellen.

Aus den Kurvvorträgen

Analyse spezieller Stoffwechselsituationen

C. E. Sripati und *D. Szafarz* (Paris, Frankreich) berichteten über die Glykolyse von Leber-Zellkernen und die Rolle, die dem AMP dabei zukommt. Die Glykolyse der Kerne läuft wegen der ständigen Gegenwart von ATPase und ATP verbrauchender Reaktionen nur ab, wenn sie mit einer kleinen Menge Fructose-1,6-diphosphat angeregt oder wenn Fructosediphosphat als Substrat verwendet wird. Die cytoplasmatische, von Glucose ausgehende Glykolyse wird durch Zufügen der Kerne gehemmt; sie wird aktiviert bei Verwendung von Fructosediphosphat als Substrat. Die Hemmung im ersten Fall kann durch Erhöhung der ATP-Konzentration rückgängig gemacht werden. Dieser Einfluß der Kerne im Sinne einer ATP-Verminderung kommt vermutlich durch die Wirkung einer Adenylylkinase zustande. Das konnte dadurch gezeigt werden, daß Zufügen von AMP die obenerwähnte Hemmung der cytoplasmatischen Glykolyse durch die Kerne verstärkt. Da andererseits AMP zu ADP und ATP phosphoryliert oder zu Adenin und Hypoxanthin abgebaut werden kann, schreiben die Vortr. dieser Substanz, die verhältnismäßig leicht durch die Kernmembran diffundieren kann, eine regulative Rolle auf die Glykolyse zu.

In Analogie zu diesen Befunden beobachteten *F. Hözel*, *H. Maas* und *A.-M. Hirsch-Hoffmann* (Hamburg), daß isolierte Zellkerne aus Ehrlich-Ascitustumorzellen bei aerober Inkubation mit den entsprechenden Substraten und Cofermenten Fructosediphosphat und Triosephosphat nahezu vollständig zu Milchsäure abbauten, während Intermediate oberhalb Fructosediphosphat und Glucose nicht als Milchsäure erschienen.

Aus Zwischenstoff-Konzentrationen leiteten *H. Reinauer* und *F. H. Bruns* (Düsseldorf) Aussagen über geschwindigkeitsbestimmende Schritte bei der Glykolyse von menschlichen Erythrocyten ab. Sie fanden eine pH-Abhängigkeit, verursacht durch eine Verschiebung des pH-Wertes zur sauren Seite. Oberhalb von pH = 7,3 ist die Glycerin-aldehydphosphat-Dehydrierung limitierend, während unterhalb von pH = 7,2 die Hexokinase-Reaktion die Geschwindigkeit der Glykolyse bestimmt.

Einen interessanten Einblick in den Kohlenhydratstoffwechsel von *Clostridium kluveri* gaben *K. Decker*, *H. Metz* und *Ch. Barth* (Freiburg). Dieses obligat anaerobe Bakterium vermag Glucose, Brenztraubensäure und ähnliche Stoffe nicht zu verwerten, sondern wächst ausschließlich auf Alkohol und niederen Fettsäuren. Es bot daher Gelegenheit, der Biosynthese der Pentosen und Strukturkohlenhydrate nachzugehen, ohne dabei den Kohlenhydratabbau berücksichtigen zu müssen. Es wurde gefunden, daß mehrere Glucose abbauende Enzyme fehlen; insbesondere findet nur eine sehr geringfügige Phosphorylierung statt. Reservekohlenhydrat ist nicht Glykogen oder Polyhydroxybuttersäure, sondern das in relativ hoher Konzentration vorkommende Glucose-6-phosphat. Das C-Gerüst wird nicht aus Acetat oder Äthanol, sondern aus CO₂ synthetisiert. Die Pentosen entstehen nicht über 6-Phosphogluconsäure, sondern sehr wahrscheinlich über den reduktiven Pentosephosphat-Cyclus.

I. Witt, *P. G. Weiler* und *H. Holzer* (Freiburg) berichteten über eine gezielte Stoffwechseländerung, die sie durch Zusatz von NH₄⁺-Ionen zu Glucose oxydierenden Hefezellen bewirkten. Schon in den ersten Minuten nach NH₄⁺-Zusatz läßt sich eine Folge von Reaktionen in Richtung Wachstum (= Substanzvermehrung) beobachten, so die bereits früher untersuchte Anhäufung von Glutamin, die etwa 2/3 des aus dem Medium aufgenommenen Ammoniums entspricht. Das restliche Drittel wird wahrscheinlich über Carbamylphosphat in Pyrimidine usw. eingebaut. Mit dieser Reaktion sollte auch eine entsprechende CO₂-Fixierung verbunden sein. Tatsächlich konnte durch NH₄⁺-Gabe ein vier- bis fünffach gesteigerter Einbau von ¹⁴CO₂ in die Nucleotide der RNS, DNS und in Protein nachgewiesen werden.

Enzymsysteme, Hemmung und Aktivierung von Enzymen

Über DPN-abhängige Isocitronensäure-Dehydrogenase berichteten *H. Goebell* und *M. Klingenberg* sowie *A. Marty* und *H. Goebell* (Marburg). Das Enzym kann besonders gut aus den Mitochondrien des Flugmuskels der *Locusta migratoria* angereichert werden. Es wird durch ADP aktiviert, durch ATP gehemmt. Im Hinblick auf die ebenfalls gemessene TPN-spezifische Isocitronensäure-Dehydrogenase scheint eine Alternativregulation der Wasserstoff-Übertragung zu bestehen, die vom ATP/ADP-Quotienten der Mitochondrien abhängig ist. Da die DPN-spezifische IDH in verschiedenen Mitochondrien in einem konstanten Verhältnis zu den Cytochromen steht (im Gegensatz zur TPN-IDH), scheint ihr die grundlegende Funktion bei der Isocitrat-Veratmung zuzukommen.

P. Arese, *R. Kirsten*, *E. Kirsten* und *H. J. Hohorst* (Marburg) berichteten über die Glutamat-Pyruvat- und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase-Gleichgewichte im ruhenden und arbeitenden Flugmuskel von *Locusta migratoria*. Sie bestimmten die Gehalte an Oxalacetat, Pyruvat, α -Ketoglutarat, Alanin, Aspartat und Glutamat im Gewebe nach Ruhe und Belastung und berechneten daraus die scheinbaren Gleich-

gewichtskonstanten „in vivo“. Sie fanden gute Übereinstimmung mit den von anderen Autoren „in vitro“ bestimmten Massenwirkungskonstanten. Die Gleichgewichtslage beider Reaktionen bleibt auch nach kurzem Flug des Insekts praktisch unverändert.

Ebenfalls mit einer Transaminase besaßen sich *G. Schreiber* und *H. Holzer* (Freiburg). Sie berichteten über eine Glutamat-Aspartat-TA aus Bierhefe, die ca. 150-fach angereichert wurde. Das Enzym liegt nach der Anreicherung als Apoenzym vor und kann deshalb zur Bestimmung sehr kleiner Mengen von Pyridoxaminphosphat und Pyridoxalphosphat dienen.

Über neue Ergebnisse zum Aufbau der β -Galaktosidase aus Untereinheiten berichteten *H. Sund*, *K. Weber* und *K. Wallenfels* (Freiburg). Wird das aus *E. coli*-Stämmen isolierte kristallisierte Enzym (MG 518000) in 5 M Guanidin-HCl mit Jodacetamid alkyliert, so zerfällt es in vier Untereinheiten vom Teilchengewicht 147000 („S_{3,7}-Komponente“). Oxydation mit Perameisensäure und Behandlung mit Natrium-dodecylsulfat ergibt eine Einheit vom Teilchengewicht 53000, welches nach Entfernung des gebundenen Dodecylsulfats auf 43000 sinkt („S_{2,1}-Komponente“). Es kann demnach angenommen werden, daß die S_{3,7}-Komponente ihrerseits aus mindestens drei kleineren Untereinheiten besteht, für deren Verknüpfung im Gegensatz zu der Bindungsart bei der Assoziation der S_{3,7}-Komponenten Disulfidbrücken möglich erscheinen. Auch Harnstoff und p-Chlorquecksilberbenzoat spalten das Enzym-Molekül in Untereinheiten.

D. Pette und *G. Ruge* (Marburg) referierten über eine „Aktivierung“ der Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase durch Blausäure. Dieser von *Emmelot* und *Bos* an Gewebeextrakten gefundene Effekt konnte als Scheineffekt aufgeklärt werden, der auf der Verwendung von nicht genügend reinen Substanzen bei der Aktivitätsbestimmung beruht. Vor allem in enzymatisch gewonnenen Triosephosphaten ist nämlich fast stets Methylglyoxal als Verunreinigung enthalten; diese Verbindung wird unter Cyanid-Einwirkung dismutiert, und das entstehende Pyruvat führt dazu, daß in Gewebeextrakten zugleich die GDH- und LDH-Aktivität gemessen werden. Auch ein weiteres, noch nicht identifiziertes Spaltprodukt von Triosephosphat kann interferieren.

Die Hemmung des citrat-kondensierenden Enzyms durch Palmitoyl-CoA untersuchten *O. Wieland*, *L. Weiss* und *I. Eger-Neufeldt* (München) an kristallisiertem Enzym aus Schweineherz und an einer Enzympräparation aus Rattenleber, die sich ähnlich verhielten. Studien am Schweineherz-Enzym erbrachten, daß zur Hemmung der unverseifte Thioester nötig ist, daß die Inhibitorkonstante K_i = 4,5 · 10⁻⁶ (M/l) beträgt und daß die Hemmung durch Erhöhung der Acetyl-CoA-Konzentration nicht aufgehoben werden kann. Die Hemmung ist wichtig für die Ketogenese.

J. J. Bechet (Orsay, Frankreich) berichtete über eine Aktivierung von Trypsin durch hohen Substratüberschuß. Er fand bei der Hydrolyse von p-Toluolsulfonyl-D-arginin-methylester, daß die Reaktionsgeschwindigkeit von einer Substrat-Konzentration ab 2 M nicht mehr der Michaelis-Menten-Beziehung gehorcht, sondern beträchtlich gesteigert wird. In Anlehnung an Vorschläge anderer Autoren und auf Grund seiner Vergleiche kinetischer und thermodynamischer Daten der normalen Hydrolyse mit denen des Aktivierungsvorgangs nimmt Bechet an, daß sich ein zweites Substratmolekül an den Enzym-Substrat-Komplex anlagert und dessen Spaltung erleichtert, vielleicht im Sinne eines „induced fit“.

H. Schirardin, *P. Metais* und *D. Sigrist* (Straßburg, Frankreich) konnten durch eine von ihnen entwickelte Mikrobestimmung des Trypsins die Reaktion mehrerer Inhibitoren mit dem Enzym studieren. Vortr. fanden eine Abhängigkeit von Ca²⁺-Ionen, bestimmten die Inhibitionskapazität des Kunitz-, Mundspeicheldrüsen-, Sojabohnen- und Ovomucoid-Inhibitors und ermittelten für den Sojabohnen-Inhibitor eine kompetitive, für den Ovomucoid-Inhibitor eine nichtkompetitive Hemmung.

I. Trautschold, *E. Werle* und *H. Sebening* (München) berichteten über einen neuen Trypsin-Inhibitor aus Submaxillaris-

drüsen von Caniden und Feliden. Der gereinigte Hemmkörper ist ein Polypeptid und unwirksam gegenüber den Kallikreinen.

Aktivatoren und Inhibitoren der plazentalen östrogenabhängigen Transhydrogenase in vitro und Östrogeneffekte dieser Verbindung in vivo untersuchten *E. Hecker* und *G. Farthofer-Boeckh* (München). Angereicherte Präparate aus menschlicher Placenta wurden mit Östran- und Stilbenabkömmlingen in An- und Abwesenheit von Östradiol-(17 β) sowie Östron inkubiert und die Kinetik der Bildung von NADH in einem optischen Test verfolgt. Entscheidend für die Aktivierung des Enzyms ist das alleinige Vorhandensein einer 17 β -Hydroxy- oder einer 17-Oxo-Gruppe. Mit ^{14}C -markiertem Östradiol-(17 β) und Östron konnte gezeigt werden, daß die Aktivierung der Transhydrogenase zu einem Gleichgewichtsgemisch mit ca. 90 % Östradiol-(17 β) und ca. 10 % Östron führt. Eine Parallelität zwischen der Fähigkeit zur Aktivierung des Enzyms in vitro und östrogenen Wirkung in vivo findet sich nur bei Östradiol-(17 β) und Östron sowie deren 2- bzw. 4-Fluor-Derivaten. Eine Transhydrogenase-Reaktion dieses Typs kann somit im Gegensatz zu der Auffassung von *Villee* nicht der entscheidende Angriffspunkt des Östradiols bzw. Östrons in den Erfolgsorganen sein.

Über 10 β -Hydroxylierung und Proteinbindung von Östron mit Rattenlebermikrosomen berichteten *F. Marks* und *E. Hecker* (München). Beispielsweise wird Östron-[16- ^{14}C] in Gegenwart von NADPH₂ und Sauerstoff in kurzer Zeit praktisch vollständig in ätherlösliche (etwa 80 %), wasserlösliche (1–2 %) und proteingebundene Metaboliten (7–15 %) umgewandelt. Dabei findet u. a. die von *Westerfeld* 1940 geforderte 10-Hydroxylierung zum p-Chinol statt; daneben konnte für Tetralol-(6) und Östradiol-(17 β) auch eine o-Hydroxylierung nachgewiesen werden.

Während die Proteinbindung für Östradiol-(17 β) und Östron keine großen Unterschiede zeigt, ist die 10-Hydroxylierung bei Östron deutlich bevorzugt. p-Hydroxylierung und Proteinbindung werden durch p-Chlorquecksilberbenzoat (10^{-3} M) vollständig, durch Cyanid (10^{-3} M) und α -Benzoinoxim (10^{-3} M) zu 30–50 % gehemmt.

Verglichen mit der schnellen p-Hydroxylierung ist die Proteinbindung langsam mit wesentlich höherem NADPH₂-Bedarf.

Regulationsphänomene

G. Hierholzer und *H. Holzer* (Freiburg) fanden, daß die DPN-abhängige Glutaminsäure-Dehydrogenase aus Hefe, deren biologische Funktion im Gegensatz zu der TPN-GluDH im Abbau von Glutaminsäure zu α -Ketoglutaräure und NH₄⁺ zu sehen ist, in wesentlich höherem Ausmaß synthetisiert wird, wenn keine NH₄⁺-Ionen oder Substanzen, die rasch NH₄⁺-Ionen liefern, im Wachstumsmedium zugegen sind. Hier liegt eine Repression der Enzymsynthese durch NH₄⁺ vor; die Zunahme der DPN-GluDH-Aktivität ist außer an das Fehlen von NH₄⁺ an die Anwesenheit eines energieliefernden Substrates gebunden und wird durch Jodacetat und Actinomycin gehemmt.

Auch die ebenfalls NH₄⁺-Ionen liefernde Threonidesaminase aus Hefe unterliegt einer Repression durch im Nährmedium enthaltene NH₄⁺-Salze. *H. Holzer*, *M. Boll* und *C. Cennamo* (Freiburg) berichteten darüber hinaus über eine weitere regulative Eigenschaft dieses Enzyms: es wird im Sinne einer Endprodukthermmung nach *Umbarger* durch L-Isoleucin gehemmt; D-Isoleucin ist ohne Wirkung, ebenso Valin und andere Aminosäuren; L-Leucin zeigt eine geringere Hemmwirkung. Die Bedeutung dieser Befunde wurde im Hinblick auf eine rasche „Feinkontrolle“ (Anpassung an die Isoleucin-Konzentration) und eine langsamere „Großkontrolle“ (Anpassung an die NH₄⁺-Konzentration) diskutiert.

F. Lingens, *H. Kraus* und *W. Lück* (Tübingen) berichteten über Versuche zur Regulation der Tryptophan-Biosynthese. Sie zeigten, daß Indol-akkumulierende Mutanten von *S. typhimurium*, die einen genetischen Block unmittelbar vor dem

Tryptophan trugen, nach Zufügen von L-Tryptophan, D-Tryptophan und einigen homologen und analogen Verbindungen kein Indol mehr akkumulieren. Um L- und D-Tryptophan in ihrer Wirkung quantitativ vergleichen zu können, was bei der Einfachmutante nicht möglich ist, weil ihr L-Tryptophan das Wachstum ermöglicht, wurden Doppelmutanten erzeugt und selektiert, die einen Block in einer zweiten Synthesekette enthielten. Der Bildungsweg des Tryptophans wurde an Hand von Akkumulaten verschiedener Tryptophanmangelmutanten mit genetischem Block vor der Anthranilsäure untersucht.

W. Tarnowski, *P. Arend* und *H. Hilz* (Hamburg) erörterten die Frage, wie die Wirkung des Cortisols auf die Glykogenbildung zu erklären ist. Sie fanden beim Studium des Metabolit- und Enzymspiegels in der Leber von Ratten, denen vier Tage nach Adrenalectomie Cortisol appliziert worden war, eine sehr früh eintretende beträchtliche Steigerung der G-6-P-Konzentration, die, wenn man die Werte von 6 Std. nach Cortisolgabe zugrunde legt, eine etwa 10-fache Steigerung der Glykogen-Synthetase-Aktivität („precursor activation“) und eine Verdoppelung der Synthetase-Menge („precursor induction“) zur Folge hatte. Die Cortisolwirkung auf die Glucose-Polymerisation ist also indirekt.

W. Seubert, *H. V. Henning* und *I. Seiffert* (Frankfurt/Main) verfolgten die Cortisolwirkung auf einer früheren Stufe der Gluconeogenese. Durch Einbau von radioaktivem Pyruvat in Citrat ermittelten Vorr. die Aktivität des Pyruvat carboxylierenden Enzyms, das bei der Synthese von Phosphoenolpyruvat beteiligt ist. Sie fanden einen vier- bis sechsfachen Anstieg des Enzyms innerhalb von 6 Std. nach Cortisolgabe.

B. Kadenbach (Marburg) berichtete über den Einfluß von Thyreoidhormonen auf den Pyridinnucleotid-Gehalt von Mitochondrien in verschiedenen Geweben der Ratte. Allgemein steigen DPN-Gehalt (Summe DPN und DPNH) und TPN-Gehalt (Summe TPN und TPNH) bei Hypothyreose und sinken bei Hyperthyreose (umgekehrt verhalten sich die Konzentrationen an Cytochrom c und a), jedoch bestehen Unterschiede hinsichtlich des Quotienten DPN/TPN, da der TPN-Gehalt mit zunehmender Thyreoidhormon-Konzentration wesentlich stärker abnimmt als der DPN-Gehalt. Das ist nach Meinung des Vortr. einer Verschiebung des Stoffwechselbildes der Mitochondrien (betroffen sind hauptsächlich Leber- und Muskelmitochondrien) zum oxydativ-abbauenden Typ gleichzusetzen.

H. Bartels, *D. Stratmann* und *H. J. Hohorst* (Marburg) diskutierten die von ihnen beobachteten vielfachen Wirkungen von Insulin auf die Lage von Fließgleichgewichten als Wirkung des Hormons auf die „primitive“ Regulation der Leberzelle. Sie fanden an alloxandiabetischen Ratten verstärkte Reduktion des extramitochondrialen DPN-Systems, entsprechend verringerte Konzentrationen an Pyruvat, Oxalacetat, Aspartat und Alanin, verringerte Phosphorylierung des ATP-Systems, erhöhte Malatgehalte und Anstieg der Aktivitäten von G-6-P-ase und FDP-ase. Nach Gabe von Insulin werden die Fließgleichgewichte der niedermolekularen Metabolite sehr bald normalisiert, während die enzymatische Kapazität (G-6-P-ase, FDP-ase) sich erst später ändert.

M. Staehelin und *A. Braunwalder* (Basel, Schweiz) berichteten über die hormonale Beeinflussung der Proteinsynthese in Rattenleberpolysomen. Eine Analyse der Leberribosomen ergab, daß die Ribosomen von hypophysektomierten Tieren im Gegensatz zu denen normaler Tiere nur in geringem Maße aus Polysomen bestehen; die Fähigkeit zum Aminosäure-Einbau war bei allen Fraktionen vermindert.

Nucleotide und Nucleinsäuren

H. Hilz, *B. Bertram*, *P. Hlavica* und *H. Berndt* (Hamburg) befaßten sich mit der Deutung des strahlenbedingten DPN-Abfalls in Ascitestumoren als Schädigung der aktiven Nicotinamid-Konzentrionierung. Ihre Hypothese, daß der DPN-Abfall, der nach Einwirkung cytotoxischer Agensien auftritt, auf einer Enthemmung der DPNase infolge Austretens von

Nicotinamid aus der Zelle beruht, stützten die Vortr. auf einige Beobachtungen (Nicotinamid-Nachweis im Milieu nach Bestrahlung, Nicotinamid-Konzentration in der normalen Zelle, geringerer DPN-Absatz in einer konzentrierten, bestrahlten Zellsuspension, Verhinderung des DPN-Absatzes durch DPNase-Inhibitoren nur dann, wenn sie vor Entfaltung der gesteigerten DPNase-Wirkung zugesetzt werden). Daraus schließen die Vortr., daß die primäre Wirkung von cytotoxischen Agenzien auf ein Prinzip der Zellmembran („Nicotinamid-Permease“) gerichtet ist.

Mit DPN-Modellen befaßten sich *Ch. Woenckhaus* und *G. Pfleiderer* (Frankfurt/Main). Sie synthetisierten Verbindungen, die im Purinring substituiert waren; z. B. wurde die NH₂-Gruppe durch -SH oder -SCH₃ ersetzt, wodurch die Wechselwirkung zwischen Purin- und Pyridinring besser studiert werden konnte. Alle untersuchten Modelle einschließlich einer Verbindung, die einen 6-Methyl-2-chlorpurin-Teil enthielt, waren als Coenzyme aktiv und zeigten eine sich wenig vom natürlichen DPN unterscheidende Michaelis-Konstante. Die Verteilung freier Nucleotide im Zentralnervensystem einiger niederer Wirbeltierarten wurde von *H. Rein*, *S. Harth-Edel* und *P. Mandel* (Straßburg, Frankreich) untersucht. Dabei ergaben sich für ATP und UTP signifikante Unterschiede: Die ATP-Konzentration ist bei Fischen und Schildkröten bedeutend niedriger als bei Hühnern, bei denen der Wert dem der Säuger nahekommt. Der UTP-Gehalt verhält sich insofern anders, als auch Schildkrötenhirn höhere Werte zeigt, während bei GTP keine wesentlichen Unterschiede bestehen.

A. Holldorf und *E. Riege* (Freiburg) berichteten über die Verwertung von exogenem Thymidin durch *E. coli*. Exogenes Thymidin wird als solches nur in sehr geringem Maß in die DNS eingebaut. Bisher wurde als Ursache dafür eine sehr rasche Phosphorylyse durch eine induzierbare Phosphorylase angenommen. Die Vortr. zeigten jedoch, daß auch im phosphatfreien Medium eine Thymidinspaltung erfolgt. Das Medium eines solchen Versuchs enthält die freie Base Thymin zu 98 %, während vom Zucker (Zuckerphosphat) weniger als 1 % gefunden wird. Der Desoxyribose-Rest des Thymidins wird rasch in andere Nucleotid-Bausteine der DNS eingebaut, und zwar durch die Wirkung einer Trans-N-Desoxyribosylase. Das freie Thymin wird von den Zellen wieder ausgeschieden.

Von *H. Maass*, *V. Armburst* und *F. Hözel* (Hamburg) wurden die DNS-Synthese sowie der DPN- und TPN-Gehalt in

regenerierender Rattenleber nach Injektion des Cytostaticums Trenimon untersucht. Es stellte sich heraus, daß die Hemmung der DNS-Synthese vom Zeitpunkt der Injektion abhing. Die Hemmung war geringer, wenn die alkylierende Substanz während der Synthesephase verabreicht wurde. Sie war stärker, wenn injiziert wurde, als die DNS-Synthese noch nicht eingesetzt hatte. Die Bestimmung der DPN- und TPN-Konzentrationen ergab, daß beide Coenzyme in der regenerierenden Leber vermindert auftreten. Eine signifikante Veränderung der Konzentrationen nach Trenimon wurde nicht gefunden.

In *E. coli* untersuchten *B. Schnieders* und *H. Kersten* (Münster) das RNS-DNase-System. Bei dem Enzym handelt es sich um eine Endodesoxyribonuclease vom Typ I, die in vitro durch RNS gehemmt wird. Ihre Freisetzung kann in *E. coli*-Zellen durch Mitomycin C indirekt dadurch hervorgerufen werden, daß die Inhibitor-RNS durch eine von Mitomycin aktivierte RNase gespalten wird. Die Vortr. zeigten, daß das RNS-DNase-System nicht an Ribosomen gebunden ist; die Inhibitor-RNS kommt hauptsächlich in der s-RNS-Fraktion vor. Während der logarithmischen Phase steigt die Menge der an RNS gebundenen DNase entsprechend der Bildung von RNS an.

M. Dette und *W. Kersten* (Münster) berichteten über DNS aus *Bacillus subtilis*, die auch dann noch synthetisiert wird, wenn durch subletale Actinomycin-Gaben die Synthese von RNS und Protein gehemmt ist. Die Bildung von DNS läuft maximal solange weiter, bis doppelt so viel DNS wie in normalen Zellen vorliegt. Diese in Gegenwart von Actinomycin synthetisierte DNS zeigte keine charakteristischen Unterschiede gegenüber der DNS aus normalen Zellen. Es ist anzunehmen, daß nicht die identische Reduplikation selbst, sondern Regulationsvorgänge der DNS-Synthese in Mitleidenschaft gezogen wurden, wodurch auch der gestörte Zellteilungsmechanismus erklärt würde.

Über die Wirkung von Wasserstoffperoxyd auf Nucleinsäuren und ihre Bausteine referierten *W. Zillig* und *H. Priess* (München). Insbesondere wurde die Abbaugeschwindigkeit bei hohem H₂O₂-Überschuß studiert. Im schwach alkalischen Bereich wird Up erheblich schneller angegriffen als Ap, Gp, Cp und d-Thymidin. Reaktionsprodukte des Up sind N-Ribosylharnstoffphosphat und Derivate. Uracil wurde auch im Verband der s-RNS kinetisch bevorzugt abgebaut.

[VB 760]

Chemikertreffen Schweiz—Österreich

vom 3. bis 5. Oktober 1963 in Innsbruck (Österreich)

Aus den Vorträgen:

Chemische Untersuchungen über Interferon

G. Bodo und *Ch. Jungwirth*, Wien (Österreich)

Zwei durch verschiedene Virusstämme (Influenza A MEL und Influenza B LEE) in Chorioallantois-Membranen von Hühnereiern hergestellte Interferon-Präparate wurden zuerst gereinigt [1]. Das Verhalten beider Präparate bei der Säulenchromatographie an Sulfoäthyl-Cellulose bei pH = 2,0 und an DEAE-Cellulose bei pH = 6,6 und 4,5 war vollkommen gleich. Stärkeelektrophorese der gereinigten Präparate ergab mehrere Proteinbändern. Wegen der Adsorption des Interferons an Stärkegel war eine Elution der biologisch aktiven Komponenten nicht möglich. Es zeigte

sich, daß die beschriebene Reinigungsmethode nicht zu reinen Interferonpräparaten führte.

Gut gereinigt wurden die vorgereinigten Präparate durch Säulenchromatographie an Sephadex G-100. Das Molekulargewicht des Interferons wurde durch Vergleich mit reinen Proteinen aus der Lage des Maximums der biologischen Aktivität im Elutionsbild abgeschätzt. Es ergaben sich für die Hauptkomponente beider Präparate 25000 bis 35000. Dieses relativ niedrige Molekulargewicht steht im Gegensatz zu früheren Bestimmungen (*Burke* [1]: 63000) und stimmt mit neuen Angaben, welche mit Hilfe der Ultrazentrifuge ermittelt wurden, überein. (*Lampson* et al. [2]: 20000 bis 34000; *Rotem* et al. [3]: 20000 bis 25000).

[1] *G. P. Lampson, A. A. Tytell, M. M. Nemes u. M. R. Hilleman*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 112, 468 (1963).

[2] *Z. Rotem u. P. A. Charlwood*, Nature (London) 198, 1066 (1963).

[1] Vgl. *D. C. Burke*, Biochem. J. 78, 556 (1961).