

ÜBER DIE ROLLE DER SH-GRUPPEN BEI VORGÄNGEN AM AKTOMYOSIN, MYOSIN UND AKTIN

von

G. KUSCHINSKY UND F. TURBA

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz (Deutschland)

I. EINLEITUNG

SINGER UND BARRON¹ haben gezeigt, dass bei der Adenosintriphosphatase- (ATP-ase) Wirkung ihres Myosinpräparates SH-Gruppen eine Rolle spielten, da die Enzymwirkung durch *p*-Chlormercuribenzoat ($1.3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) völlig gehemmt wurde. Nach BAILEY UND PERRY² hängt die Wechselwirkung zwischen Aktin und Myosin von der Anwesenheit von SH-Gruppen im Myosin-Partner ab. Wir haben gefunden, dass auch für die "Kontraktion" des Aktomyosins bestimmte SH-Gruppen erforderlich sind (KUSCHINSKY UND TURBA³). Ausgehend von diesen Befunden haben wir untersucht, ob auch andere Vorgänge an jenen Proteinen, die zu der Muskelkontraktion direkt in Beziehung stehen, nämlich an Aktomyosin (AM) und seinen Komponenten, der Gegenwart von SH-Gruppen bedürfen. Es war ferner zu prüfen, ob den einzelnen untersuchten Vorgängen (Kontraktion des Aktomyosins, Symplexbildung bzw. Dissoziation von Aktin und Myosin, Transformation des globulären G-Aktins zum faserförmigen F-Aktin), jeweils bestimmte SH-Gruppen zuzuordnen sind.

II. DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE

a. Substanzen

Aktomyosin. Die Darstellung erfolgte entsprechend den Angaben der früheren Arbeit³. Die Extraktion wurde meist 24 Stunden lang bei 0° und pH 7.0 unter dauerndem langsamen Rühren ausgeführt. Nach dem letzten Umfällen wurde 12 Std. gegen dest. Wasser bei $3-5^\circ$ dialysiert. Die Präparate zeigten auf Zusatz von ATP zum Gel eine starke "Kontraktion" und deutliche ATP-ase-Wirkung. Auf Zusatz von ATP zur Lösung sank die Viskosität dem hohen Aktingehalt entsprechend ab (Fig. 1).

Myosin. Die Extraktion wurde nach 10 Min. unterbrochen und der Extrakt rasch und unter guter Kühlung weiterverarbeitet⁴. In den meisten Fällen verzichteten wir auf eine vollständige Abtrennung der im Extrakt enthaltenen kleinen Aktinmengen, da völlig reines Myosin (z.B. nach der Ammonsulfatmethode von DUBUSSON⁵ dargestellt) viel rascher inaktiviert wird. Der geringe Aktingehalt, der in der kleinen Viskositätsänderung der Myosinlösung auf Zusatz von ATP zum Ausdruck kommt (Fig. 2), störte unsere Versuche nicht. Der Proteingehalt der Lösungen (gravimetrisch bestimmt durch Fällung mit Methanol oder durch N-Bestimmung nach KJELDAHL) betrug etwa 10-20 mg/ml.

Aktin. Die Darstellung erfolgte nach der modifizierten Methode von STRAUB (vgl. SZENT-GYÖRGYI⁶). Die Lösungen enthielten etwa 1 mg Protein/ml (bestimmt durch isoelektrische Fällung). *ATP* und *Adenylysäure*. Wie in den früheren Arbeiten^{3, 12} wurden die Handelspräparate "ATRIPHOS" bzw. "MY-B-DEN" verwendet. Die Stammlösungen enthielten 10^{-8} Mol der K-Salze/ml. *Salyrgan*. Von dem theophyllin-freien Präparat* (komplexe Hg-Verbindung des Salicyl-allyl-

* Für die Überlassung von Theophyllin-freiem Salyrgan danken wir den Farbwerken HöCHST, von "ATRIPHOS" dem Chemiewerk Homburg, von Adenylysäure "MY-B-DEN" der Firma Bischoff, Ivoryton, Conn. (U.S.A.)

amid-essigsäuren Na) wurde eine $m/100$ Lösung als Stammlösung verwandt. Salyrgan hat vor p -Chlormercuribenzoat (HELLERMANN⁷) den Vorteil besserer Löslichkeit.

Cystein. Von Cystein-Hydrochlorid (Hoffmann-La Roche) wurde unter Neutralisieren mit $n/10$ KOH eine $m/100$ Lösung täglich frisch angesetzt.

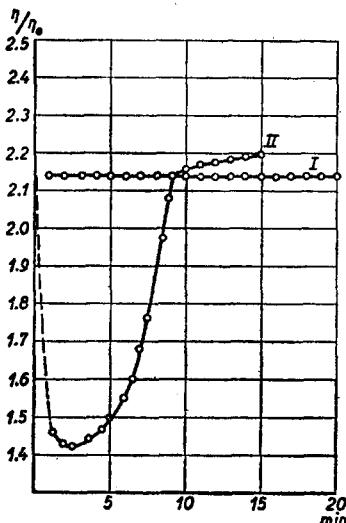


Fig. 1. Viskositätsänderung einer Aktomyosinlösung (24 Stunden-Extrakt) auf Zusatz von ATP
Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: relative Viskosität η/η_0 .

I. Aktomyosinlösung
II. Aktomyosinlösung nach ATP-Zusatz ($2 \cdot 10^{-6}$ Mol/ml). Der gestrichelte Anfangsteil der Kurve konnte wegen der Geschwindigkeit der Reaktion nicht gemessen werden

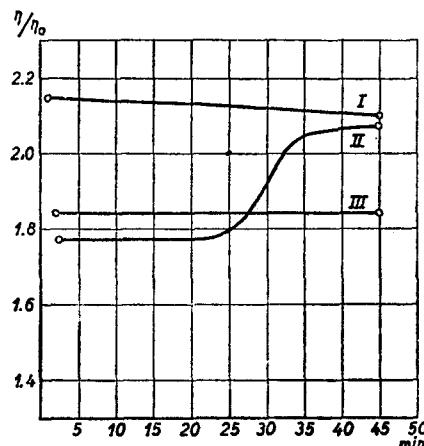


Fig. 2. Viskositätsänderung einer Myosinlösung (10 Minuten-Extrakt) auf Zusatz von ATP und F-Aktin

- I. Myosinlösung
- II. Myosinlösung nach Zusatz von F-Aktin
- III. Myosinlösung nach Zusatz von F-Aktin und ATP

b. Methoden

Kontraktion. Die Messung des Endzustandes der "Kontraktion" erfolgte nach der in früheren Arbeiten^{8, 12} angegebenen Methode.

Viskosität. Zur Viskositätsmessung verwendeten wir OSTWALD-Viskosimeter von 2 ml Inhalt mit einer Flusszeit für Wasser (25°) von etwa 17 Sek. Die kurze Flusszeit ermöglichte auch die Messung rasch ablaufender Viskositäts-Änderungen. Es erwies sich als zweckmäßig, die verwendeten Lösungen zu filtrieren.

Blockierung der SH-Gruppen mit Salyrgan, Enthemmung mit Cystein. Die Behandlung von Aktomyosin-Gel mit 10^{-6} bis 10^{-8} Mol Salyrgan/ml (Endkonzentration) wurde unter sorgfältigem Kühlen in Eiswasser und möglichst rasch (3 bis 10 Min) durchgeführt, da leicht Inaktivierung eintritt. Enthemmung mit der 3- bis 10-fachen Menge Cystein (5 bis 10 Min., 0°). Versuchsreihen zur Bestimmung der Abhängigkeit der "Kontraktions"-Hemmung von der Salyrgankonzentration mussten jeweils mit demselben Gel und sehr rasch sowie unter guter Kühlung durchgeführt werden, da sich die Eigenschaften des Gels schon bei mehrstündigem Stehen, auch bei 0° , ändern. Die Kurven für verschiedene Aktomyosinpräparate zeigten dementsprechend zwar gleichen Verlauf, differierten aber etwas in den absoluten Werten. **Lösungen des Aktomyosins** sind bei Salyrganbehandlung etwas beständiger gegen Denaturierung; 40 Min. dauernde Einwirkung von $5 \cdot 10^{-7}$ Mol. Salyrgan/ml bei 0° führte noch nicht zu irreversibler Schädigung des Aktomyosins. **Beispiel eines Ansatzes** (vgl. Fig. 11): 5.0 ml Aktomyosinlösung (11.0 mg Protein/ml), 1.0 ml $m/100$ $MgCl_2$, 1.5 ml 2 m KCl, 1.5 H_2O , 0.5 ml $m/100$ Salyrgan, $pH 7.0$; 15 Min. Stehen bei 0° ; dann Zusatz von 0.75 ml $m/50$ Cystein.

Lösungen von Myosin sind ziemlich beständig gegen irreversible Denaturierung durch Salyrgan. Mehrstündige Einwirkung von 10^{-8} Mol Salyrgan/ml (Endkonzentration) bei 3° und darauffolgendes Enthemmen mit der 3-fachen Menge Cystein führte zu unveränderten Myosinlösungen. **Beispiel eines Ansatzes** (vgl. Fig. 10): 5 ml Myosinlösung (12 mg Protein/ml) mit 0.5 ml $m/100$ Salyrgan 20 Min.

bei 0° ; 1 ml $m/100$ $MgCl_2$, 1.5 ml 2 m KCl, 1.0 ml F-Aktin (2 mg Protein/ml) zufügen; enthemmen mit 0.75 ml $m/50$ Cystein. Die zu vergleichenden Lösungen und Kontrollen enthielten stets gleiche Ionen-Konzentrationen.

Lösungen von G-Aktin wurden mit 10^{-7} Mol Salyrgan/ml (Endkonzentration) 10 Min bei 25° behandelt; Enthemmung mit der 10 fachen Menge Cystein bei 25° . *Beispiel eines Ansatzes* (vgl. Fig. 5): 2 ml $m/100$ $MgCl_2$, 2 ml 2 m KCl, 1 ml $m/500$ Salyrgan; davon 0.48 ml zu 1 ml Aktinlösung (2 mg Protein/ml), 10 Min bei 25° stehen lassen; enthemmen mit 0.12 ml $m/50$ Cystein.

Nach Behandeln von *F-Aktin* mit überschüssigem Salyrgan (vgl. Fig. 8) wurde der Überschuss an Hg-Reagens durch Fällung des Proteins am isoelektrischen Punkt (pH 4.5) bei 0° entfernt. Das F-Aktin wurde dabei nicht geschädigt, denn die Lösung (pH 7.0) zeigte auf Zusatz von 2 m Kaliumjodid den charakteristischen (irreversiblen) Abfall der Viskosität auf den Wert von G-Aktin.

III. ERGEBNISSE

Kontraktion. Die Kontraktion des Aktomyosins wird durch Zusatz von Ferricyanid nicht beeinflusst, während Salyrgan eine Hemmung verursacht, die durch Cystein aufgehoben wird (Fig. 3). Die Abhängigkeit zwischen Salyrganhemmung und Konzentration wird durch eine charakteristische, treppenförmige Kurve wiedergegeben (Fig. 4).

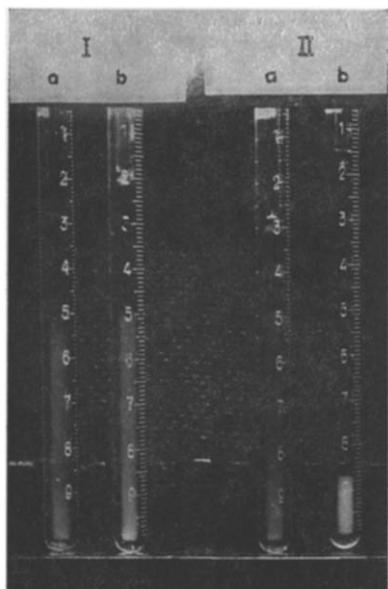


Fig. 3. Hemmung der "Kontraktion" von Aktomyosin-Gel durch Salyrgan und Enthemmung durch Cystein

I. Hemmung durch Salyrgan
 II. Enthemmung durch Cystein nach Salyrgan
 a. Versuche mit Adenylsäure; b. Versuche mit ATP

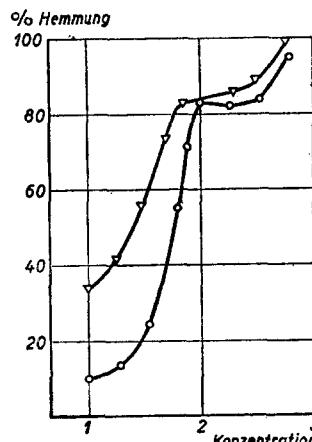


Fig. 4. Abhängigkeit der Hemmung der "Kontraktion" von der Salyrgankonzentration
 Abszisse: Salyrgankonzentration in 10^{-7} Mol/ml.
 Ordinate: Hemmung in Prozenten (Verhältnis der Säulenhöhe des Gels im ATP-Versuch zu der im entsprechenden Adenylsäure-Versuch)
 -○-○-○-○- Aktomyosin I
 -△-△-△- Aktomyosin II

Aktinpolymerisation. Die Transformation von G- in F-Aktin wird durch Salyrgan reversibel gehemmt (Fig. 5). Polymerisiertes F-Aktin wird durch Salyrgan nicht beeinflusst. Ferricyanid zeigt keine Wirkung auf die G-F-Transformation (Fig. 6).

Literatur S. 433.

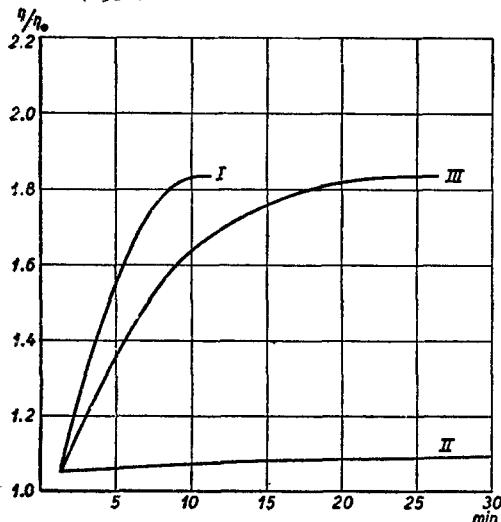


Fig. 5. Reversible Hemmung der Aktinpolymerisation durch Salyrgan

I. Viskositätsänderung bei der Aktinpolymerisation
 II. Hemmung durch Salyrgan ($1.5 \cdot 10^{-7}$ Mol/ml, 10 Min. 25°)
 III. Enthemmung durch Cystein (10^{-6} Mol/ml)

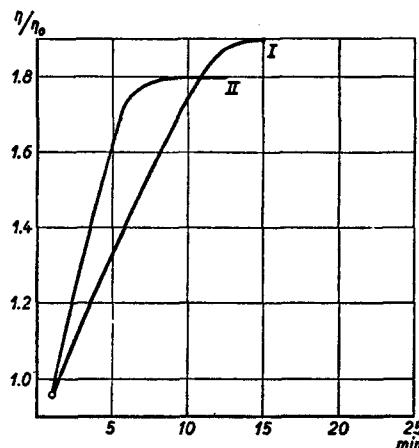


Fig. 6. Verhalten von Ferricyanid bei der Aktinpolymerisation

I. Viskositätsänderung mit Ferricyanid
 II. ohne Ferricyanid ($1.5 \cdot 10^{-7}$ Mol/ml)

Symplexbildung von Aktin und Myosin. Die Kombination sowohl von F- wie von G-Aktin und Myosin bedarf von Seiten der Aktine keiner SH-Gruppen (Fig. 7). Salyrgan-behandeltes, also an der Polymerisation gehindertes G-Aktin vereinigt sich mit Myosin zu G-Aktomyosin. Cystein kann dabei die Transformation des Aktins aus der G- in die F-Form nicht einleiten, solange dieses an Myosin gebunden ist (Fig. 8). Erst ATP, das die Dissoziation von Aktin und Myosin bewirkt, ermöglicht die Polymerisation (Fig. 9). Wirkt Cystein auf Salyrgan-behandeltes G-Aktin, bevor Myosin zugesetzt wird, 10 Min ein, so entsteht sofort F-Aktomyosin.

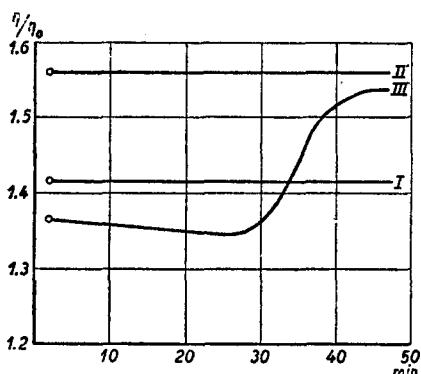


Fig. 7. Einfluss der Salyrganbehandlung von F-Aktin auf dessen Symplexbildung mit Myosin

I. Viskosität der Myosinlösung
 II. Viskosität des mit Salyrgan behandelten F-Aktins (nach Entfernung des Salyrganüberschusses) nach Zusatz der Myosinlösung I
 III. Viskositätsänderung der Lösung II nach ATP-Zusatz.

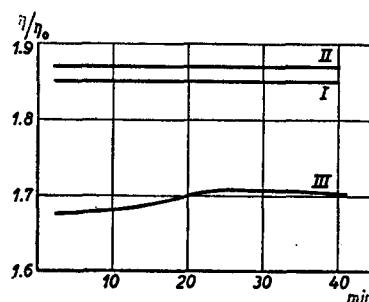


Fig. 8. Symplexbildung von Salyrgan-behandeltem G-Aktin mit Myosin

I. Viskosität der Aktomyosinlösung (erhalten durch Vereinigung von F-Aktin und Myosin)
 II. Salyrganbehandeltes G-Aktin mit Cystein 10 Min behandelt, dann Zusatz von Myosin
 III. Salyrganbehandeltes G-Aktin zugleich mit Myosin und Cystein versetzt

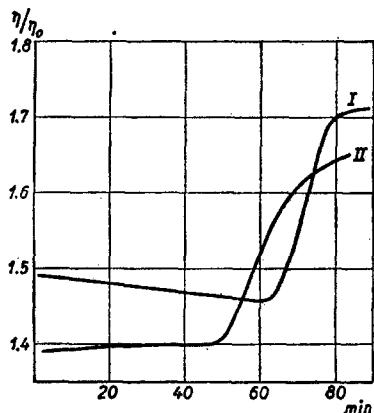


Fig. 9. Einfluss von ATP auf den Symplex aus Salyrgan-behandeltem G-Aktin und Myosin

- I. Salyrgan-behandeltes G-Aktin nach 10 Min. Einwirkung von Cystein, dann Zusatz von Myosin, dazu ATP
- II. Salyrgan-behandeltes G-Aktin, zugleich mit Cystein und Myosin versetzt, dazu ATP

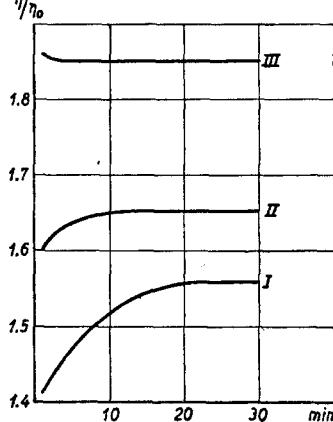


Fig. 10. Einfluss der Salyrganbehandlung von Myosin auf die Symplexbildung von F-Aktin

- I. Viskosität von Myosin nach Salyrganzusatz (20 Min. Einwirkung bei 0°)
- II. Zusatz von F-Aktin zum salyrganbehandelten Myosin I
- III. Zusatz von Cystein zu II.

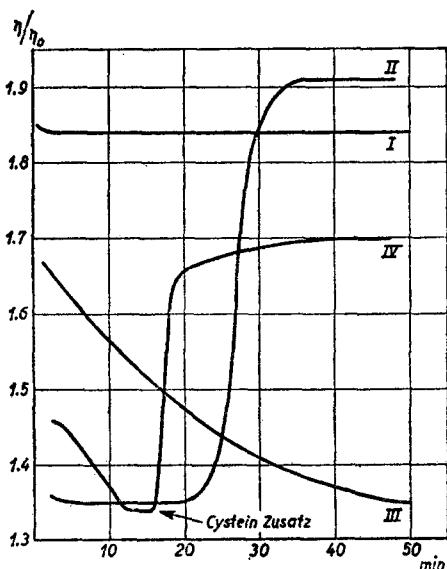


Fig. 11. Einfluss der Salyrganbehandlung von Aktomyosin auf dessen Viskosität

- I. Viskosität der Aktomyosinlösung (24 Std.-Extrakt)
- II. Zusatz von ATP zur Aktomyosinlösung
- III. Behandlung von Aktomyosin mit Salyrgan (15 Min 25°)
- IV. Behandlung von Aktomyosin mit Salyrgan (40 Min 0°) dann Zusatz von Cystein

Literatur S. 433.

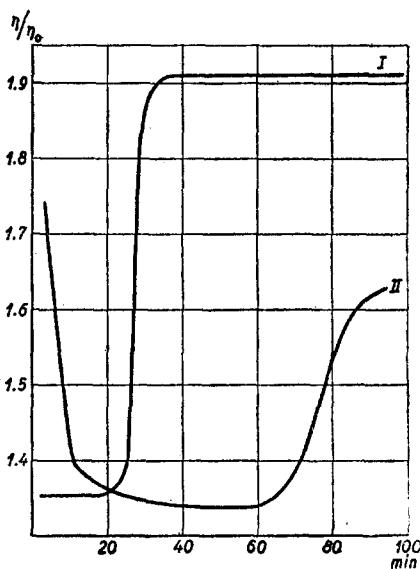


Fig. 12. Einfluss von Salyrgan auf die ATP-ase des Myosins (Aktomyosins)

- I. Zusatz von ATP zur Aktomyosinlösung
- II. Zusatz von ATP und Cystein zu Aktomyosin, das 15 Min. bei 0° mit Salyrgan behandelt worden war

Behandlung des Myosins mit Salyrgan verhindert die Kombination von Aktin und Myosin, also sind von Seiten des Myosins SH-Gruppen an der Symplexbildung beteiligt (Fig. 10).

Auf Zusatz von Salyrgan zu Aktomyosin-Sol fällt die Viskosität auf den gleichen Betrag ab, der auch bei Einwirkung von ATP erreicht wird. Cystein-Zusatz bewirkt einen raschen Wiederanstieg der Viskosität (Fig. 11).

Die ATP-ase des Myosins wird durch Salyrgan gehemmt, durch Cystein reaktiviert (Fig. 12).

IV. DISKUSSION

Die Versuche zeigen, dass tatsächlich SH-Gruppen an allen von uns untersuchten Vorgängen am Aktomyosin und Aktin teilhaben. Da Ferricyanid die Kontraktion nicht hemmt, schliessen wir, dass eine Oxydation *benachbarter SH-Gruppen* nach der Gleichung $2 \text{ SH} \rightarrow -\text{S}-\text{S}-$ keine Rolle spielt. Dagegen betrifft die Reaktion von Salyrgan nicht nur die benachbarten, sondern auch die *einzelständigen SH-Gruppen*; es müssen also diese sein, deren Blockierung durch Salyrgan die Kontraktion verhindert.

Dass die Hemmung durch Salyrgan nicht auf Denaturierung beruht, zeigt die Reversibilität durch Cystein. Oxydierende SH-Reagentien wie Jod in Kaliumjodid inaktivieren dagegen unter Denaturierung. Der stufenförmige Verlauf der Kurve, welche die Abhängigkeit der Kontraktionshemmung von der Salyrgankonzentration darstellt, legt die Vermutung nahe, dass auch bei den salyganempfindlichen, an der Kontraktion beteiligten SH-Gruppen wiederum zwei verschiedene Typen unterschiedlicher Reaktionsfähigkeit zu unterscheiden sind.

Einige Autoren^{8, 9} haben gezeigt, dass Oxydantien die *Transformation von G- in F-Aktin* u.U. reversibel verhindern. Aus der Notwendigkeit der Gegenwart von Magnesiumionen für die Polymerisation wurde weiter geschlossen, dass die Magnesiumionen mit den oxydablen Gruppen zusammentreten und so die korpuskulären Einheiten verknüpfen. Nach unseren Versuchen sind SH-Gruppen für die Polymerisation wesentlich. Es ist anzunehmen, dass diese SH-Gruppen den oxydablen Gruppen früherer Autoren entsprechen. Oxydation mit Ferricyanid führte unter unseren Versuchsbedingungen zu keiner Polymerisationshemmung des G-Aktins.

Im Gegensatz zur Notwendigkeit von SH-Gruppen für die Polymerisation des Aktins sind für die *Symplexbildung* mit Myosin von Seiten des Aktins SH-Gruppen nicht beteiligt. Von der Myosinseite her geschieht allerdings die Bindung über SH-Gruppen, worauf schon BAILEY UND PERRY² hingewiesen haben. Die Bindung an Myosin ist nach unseren Befunden sogar dann möglich, wenn G-Aktin vorher durch Behandlung mit Salyrgan am Übergang in die F-Form gehindert worden ist. Diese Verbindung, offenbar G-Aktomyosin, ist durch Zusatz von ATP in die beiden Komponenten spaltbar. Erst das so freigewordene G-Aktin kann wieder polymerisieren und nach Aufspaltung des vorhandenen ATP durch die Myosin-ATP-ase F-Aktomyosin bilden.

Da das von BAILEY UND PERRY² nach Angaben von BAILEY¹⁰ hergestellte "Myosin" entsprechend der Darstellungsvorschrift reich an Aktomyosin gewesen sein muss, während unser Myosin weitgehend von Aktin frei war (Fig. 2), haben wir Versuche zur Aktin-Myosin-Bindung auch mit Aktomyosin unternommen. Während wir bei unseren Hemmungsversuchen mit Salyrgan bei Myosin zu ähnlichen Ergebnissen kommen wie die genannten Autoren mit *p*-Chlormercuribenzoat, haben wir bei Aktomyosin eine

überraschende Wirkung des Salyrgans feststellen können. Auf Zusatz von Salyrgan zu Aktomyosin fällt die Viskosität ab bis auf den Wert, der auch bei Einwirkung von ATP auf Aktomyosin gefunden wird. Wir deuten diesen Befund analog der ATP-Wirkung als Dissoziation des Symplexes in Aktin und Myosin. Auf Zusatz von Cystein steigt die Viskosität rasch wieder an, sofern die Einwirkung des Salyrgans nicht zu lange ausgedehnt wurde. Allerdings verläuft der durch Salyrgan bedingte Abfall der Viskosität viel langsamer als der durch ATP hervorgerufene. Im Gegensatz zum Verhalten des Aktomyosins zeigt Myosin auf Salyrganzusatz einen Anstieg der Viskosität; auch darin kommt eine Parallele zum ATP zum Ausdruck, das gleichfalls mit *reinem* Myosin einen Viskositätsanstieg gibt (SZENT-GYÖRGYI). Es liegt daher nahe, als Angriffspunkt sowohl des Salyrgans als auch des ATP unter den gewählten Versuchsbedingungen wenigstens z.T. die gleichen SH-Gruppen im Myosinmolekül für die Symplexbildung mit Aktin verantwortlich zu machen.

Versetzt man Salyrgan-behandeltes Aktomyosin-Sol mit ATP und Cystein, so steigt die Viskosität erst nach längerer Einwirkungsdauer wieder an (Fig. 12); da nach unseren Beobachtungen in Gegenwart von Magnesiumionen* die Länge des wagerechten Teils der Viskositätskurve der ATP-ase-Wirkung des Myosins entspricht (erst nach vollständiger Aufspaltung des ATP vereinigen sich Myosin und Aktin zu Aktomyosin unter Viskositätsanstieg), kann man in diesen Versuchen eine Bestätigung der Angaben von SINGER UND BARRON¹ sehen (Hemmung der Myosin-ATP-ase durch Quecksilber-organische Verbindungen, teilweise Reaktivierung durch Cystein). Versuche über die Rolle der verschiedenen SH-Gruppen des Myosins, bzw. Aktomyosins bei phosphatischen Wirkungen sind im Gange. Es ist zu erwarten, dass durch diese und die geschilderten Versuche ein Beitrag zur Aufklärung der Wechselwirkung der verschiedenen SH-Gruppen im Aktomyosin, Myosin und Aktin bei den einzelnen Vorgängen an diesen Proteinen erreicht werden kann, z.B. zur Klärung der Frage, warum bei der Kontraktion ein Auseinanderbrechen des Aktinteiles des Aktomyosins in einzelne Globuli erfolgt. Unsere Ergebnisse lassen ferner an die Möglichkeit denken, die reversible Blockierung von SH-Gruppen durch Quecksilber-organische Verbindungen zum zeitweiligen "Einfrieren" von Vorgängen an Muskelproteinen der Myosingruppe zu benutzen.

Durch fleissige Mitarbeit bei der Durchführung dieser Versuche hat sich Fräulein M. ARTSCHWAGER ausgezeichnet.

Wir danken Mr J. GODEAUX für die freundliche Übersendung eines Sonderdruckes seiner im *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège* 1944, Nos. 5-6, erschienenen Arbeit, aus der die Hemmung der Kontraktion von Aktomyosinfäden durch thioloprive Kampfstoffe hervorgeht.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Mit der in früheren Arbeiten geschilderten Methode zur Verfolgung der "Kontraktion" von Aktomyosin wurde der Einfluss von SH-Reagentien auf diesen Prozess untersucht.
2. Die Kontraktion wird durch Ferricyanid nicht beeinflusst. Dagegen vermag Salyrgan diesen Vorgang reversibel zu hemmen; wahrscheinlich sind also einzelständige SH-Gruppen dabei massgebend. Der Verlauf der Konzentrations-Wirkungskurve lässt wiederum auf zwei verschiedene Arten Salyrgan-empfindlicher SH-Gruppen schliessen.
3. Die Transformation von G- in F-Aktin wird gleichfalls durch Salyrgan gehemmt, durch Cystein reaktiviert. Ferricyanid ist auch hier ohne Einfluss.

* Calcium-Ionen zeigen ein abweichendes Verhalten.

4. Für die Symplexbildung von Aktin und Myosin sind von Seiten des Myosins SH-Gruppen notwendig, dagegen nicht von Seiten des Aktins. Salyrgan-behandeltes G-Aktin vereinigt sich mit Myosin. Durch diese Bindung verliert es auch nach Behandlung mit Cystein die Fähigkeit zur F-Aktin-Bildung.

5. Zum Unterschied von Myosin, das mit Salyrgan einen *Viskositätsanstieg* zeigt, erfährt Aktomyosin durch Salyrganbehandlung einen *Viskositätsabfall*. Wir deuten diese Erscheinung als eine Dissoziation von Aktomyosin in Aktin und Myosin durch die Wirkung der Hg-organischen Substanz ähnlich der durch ATP verursachten.

6. Auf die Möglichkeit, Hg-organische Verbindungen zum zeitweiligen "Einfrieren" von Vorgängen an Myosinen zu benutzen, wird hingewiesen.

SUMMARY

1. The influence of SH-reagents on the "contraction" of actomyosin has been investigated by the method previously described for following this phenomenon.

2. The contraction is not influenced by ferricyanide. In contrast, Salyrgan is able to inhibit it reversibly; hence, isolated SH-groups are probably responsible. From the course of the concentration-activity curve it can be concluded that there are two kinds of SH-groups sensitive to Salyrgan.

3. The conversion of G-actin into F-actin is likewise inhibited by Salyrgan, and is reactivated by cysteine. Here again ferricyanide is without influence.

4. For the symplex-formation of actin and myosin, SH-groups from myosin are necessary, but not from actin. Salyrgan-treated G-actin combines with myosin. By this, also after treatment with cysteine, it loses the ability to form F-actin.

5. In contrast to myosin, which shows an increase in viscosity with Salyrgan, actomyosin undergoes a decrease in viscosity. We interpret this phenomenon as a dissociation of actomyosin into actin and myosin by the action of the organic mercury compound, similar to that caused by ATP.

6. The possibility is indicated of using organic mercury compounds to "freeze" the transformations of the myosins.

RÉSUMÉ

1. Nous avons étudié l'action des réactifs à SH- sur la contraction de l'actomyosine par la méthode précédemment décrite pour l'étude de ce phénomène.

2. La contraction n'est pas influencée par le ferricyanure, tandis que le Salyrgan l'inhibe de façon réversible; il semble donc que des groupements SH-isolés y jouent un rôle. La forme de la courbe concentration-action permet de prévoir deux sortes de groupes SH- sensibles au Salyrgan.

3. La transformation de la G-actine en F-actine est, elle aussi, inhibée par le Salyrgan et réactivée par la cystéine. Ici encore le ferricyanure est sans action.

4. Pour la formation du symplex actine-myosine les groupements SH- de la myosine mais non pas ceux de l'actine sont indispensables. La G-actine traitée au Salyrgan se combine avec la myosine. Elle perd ainsi la faculté de former de la F-actine même après traitement à la cystéine.

5. Contrairement à la myosine dont la viscosité augmente après traitement au Salyrgan, l'actomyosine subit par ce même traitement une diminution de sa viscosité. Nous interprétons ce phénomène par une dissociation de l'actomyosine en actine et myosine produite par l'action de la substance organo-mercure, semblable à celle causée par l'ATP.

6. Nous avons indiqué la possibilité d'emploi des combinaisons organo-mercureuses pour paralyser temporairement les transformations des myosines.

LITERATUR

- 1 T. P. SINGER UND E. S. G. BARRON, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 56 (1944) 120.
- 2 K. BAILEY UND S. V. PERRY, *Biochim. Biophys. Acta*, 1 (1947) 506.
- 3 G. KUSCHINSKY UND F. TURBA, *Experientia*, 6 (1950) 103; *Angew. Chem.*, 62 (1950) 169.
- 4 A. SZENT-GYÖRGYI, *Acta Physiol. Scand.*, 9 (1945) suppl. XXV, 84.
- 5 M. DUBUSSON, *Experientia*, 2 (1946) 412.
- 6 A. SZENT-GYÖRGYI, *I.c.* S. 87.
- 7 L. HELLERMANN U. Mitarb., *J. Biol. Chem.*, 147 (1943) 443.
- 8 G. FEUER, F. MOLNÄR, E. PETTKO, UND F. B. STRAUB, *Hung. Acta Physiol.*, 1 (1948) 1, zit. nach *Ann. Rev. Biochem.* 1949, S. 150.
- 9 W. F. H. M. MOMMAERTS, *J. Gen. Physiol.*, 31 (1948) 361, zit. nach *Ann. Rev. Biochem.*, ebenda.
- 10 K. BAILEY, *Biochem. J.*, 36 (1942) 121.
- 11 A. SZENT-GYÖRGYI, *Chemistry of Muscular Contraction*, Acad. Press, Inc., New York, 1947, S. 113.
- 12 G. KUSCHINSKY UND F. TURBA, *Biochem. Z.*, im Druck.

Eingegangen den 22. Mai 1950