

DIE WECHSELWIRKUNG VERSCHIEDENER NUKLEOSIDTRIPHOSPHATE MIT AKTOMYOSIN IM GELZUSTAND

von

WILHELM HASSELBACH

*Institut für Physiologie, Max-Planck-Institut für medizinische Forschung,
Heidelberg (Deutschland)*

I

Neuere Arbeiten haben gezeigt, dass die Spezifität der Spaltung von Nukleosidtriphosphaten (NTP) durch Aktomyosin und die Spezifität der dabei auftretenden Kontraktion des kontraktiven Proteins qualitativ viel weniger scharf ist, als viele Jahre hindurch angenommen wurde. Es hat sich gezeigt, dass Aktomyosin nicht nur Purinribosetriphosphate wie Adenosintri-phosphat (ATP), Inosintri-phosphat (ITP) und Guanosintri-phosphat (GTP), sondern auch Pyrimidinribosetriphosphate wie Uridintri-phosphat (UTP) und Cytidintri-phosphat (CTP) spalten^{1, 2, 6}. Es ist ebenso wie von ATP auch von ITP, UTP und CTP bekannt, dass die Spaltung zu Kontraktion und Spannung führt^{2, 6, 7, 34}. Es mag hinzugefügt werden, dass das gleiche auch für Azetyl-ATP und GTP gilt.

Diese Beobachtung gewinnt eine besondere Aktualität durch die Feststellung von FLECKENSTEIN, JANKE, DAVIES UND KREBS⁸ einerseits und MOMMAERTS⁹ andererseits, dass der lebende Muskel zu geringfügigen Arbeitsleistungen imstande ist, ohne dass sich der ATP-Spiegel dabei ändert. Diese Konstanz des ATP-Spiegels scheint nicht darauf zu beruhen, dass gespaltenes ATP mit Hilfe der bekannten energieliefernden Reaktionen des Muskelstoffwechsels sofort wieder restituiert wird. Infolge der geringen qualitativen Spezifität der Reaktionen zwischen Aktomyosin und den NTP könnte es möglich sein, dass bei geringer Arbeitsleistung ein anderes NTP das ATP als Reaktionspartner vertritt. Denn in geringen Mengen sind auch CTP, UTP, GTP und vielleicht eine besondere Modifikation des ITP im lebenden Muskel nachgewiesen^{3, 4, 5, 10}.

Auf der anderen Seite könnten aber auch die genannten NTP nicht unmittelbar mit dem Aktomyosin reagieren, sondern das unmittelbar verwendete ATP mit Hilfe der Nukleosiddiphosphokinase (Nudiki) restituierten^{11, 12}.

Es erscheint infolgedessen lohnend, die Reaktionen des Aktomyosin mit den NTP genauer und vor allem auch quantitativ zu untersuchen. Denn es zeigt sich, dass solche Untersuchungen ein Urteil darüber ermöglichen, ob die Reaktion des Aktomyosin mit anderen NTP — ausser ATP — quantitativ und qualitativ ausreicht, um den Kontraktionszyklus zu erklären.

II

Wird die Abhängigkeit der Spaltung verschiedener NTP von der Substratkonzentration gemessen, so zeigt sich, dass die Spaltung für alle untersuchten NTP zwischen 1 und

etwa $3 \cdot 10^{-3} M$ von der Substratkonzentration unabhängig und optimal ist (Fig. 1). Dieses Optimum liegt aber für die verschiedenen NTP verschieden hoch. Ferner ist

das Optimum für jedes einzelne NTP viel höher, wenn $1 \cdot 10^{-3} M$ Mg^{++} zugefügt ist, als wenn kein Mg^{++} zugesetzt wurde. Ohne Mg^{++} -Zusatz beträgt die Mg -Konzentration der Aktomyosin-suspension $\sim 10^{-5} M$ Mg^{++} .

Fig. 1 zeigt fernerhin, dass die vom ATP her bekannte überoptimale Substratkonzentration^{13,14} (Eigenhemmung) mit ITP, UTP und CTP als Substrat nicht auffindbar ist.

Die Fig. 1 lässt weiter erkennen, dass ebenso wie mit ATP auch mit Azetyl-ATP der Bereich der überoptimalen Konzentration bei Gegenwart von $10^{-3} M$ Mg^{++} schon früher beginnt als bei Mg^{++} -Mangel.

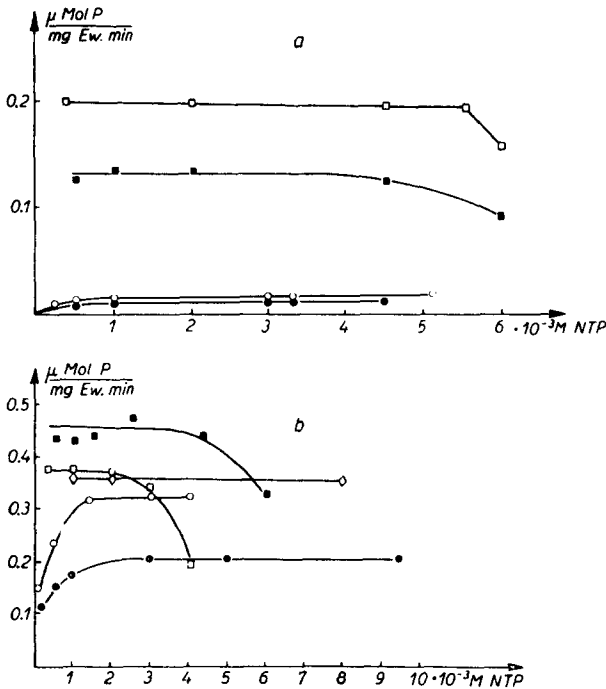


Fig. 1. Die Abhängigkeit der NTP-Spaltung von der Substratkonzentration. Ordinaten: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung in $\mu \text{ Mol. P mg Ew}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Abszissen: NTP-Konzentration. \square ATP, \blacksquare Azetyl-ATP, \diamond CTP, \bullet ITP. 1a: $[Mg^{++}] \approx 10^{-5} M$, $\mu = 0.1$, $\text{pH} = 7.0$, $T = 21^\circ \text{C}$; 2b: $[Mg^{++}] = 1 \cdot 10^{-3} M$, sonst wie 1a.

Schliesslich zeigt das Bild, dass die Spaltung von ITP und UTP mit dem Absinken der Substratkonzentration unter $1 \cdot 10^{-3} M$ in einer Michaelis-Menten-Kurve abnimmt, während die ATP und Azetyl-ATP Spaltung erst kleiner wird, wenn die Substratkonzentration wesentlich stärker erniedrigt ist.

Die Erkenntnis, dass die Spaltung der NTP in einer Konzentration zwischen 1 und etwa $3 \cdot 10^{-3} M$ von der Substratkonzentration unabhängig und jeweils optimal ist, gestattet es, den verschiedenen Mg^{++} -Bedarf der verschiedenen NTP-Spaltungen mit jeweils optimaler Substratkonzentration zu untersuchen (Fig. 2).

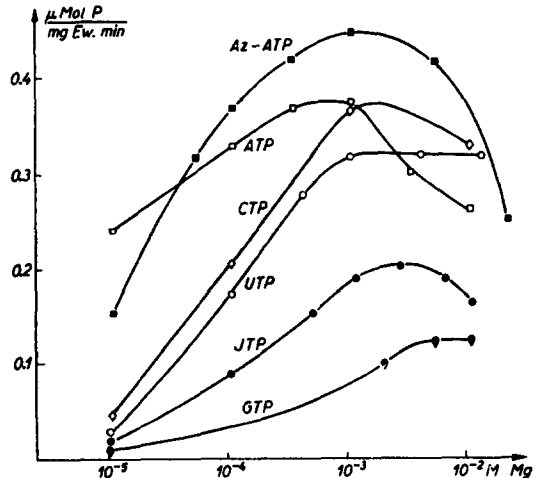


Fig. 2. Der Einfluss von Magnesium auf die Spaltung der NTP. Ordinate: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung in $\mu \text{ Mol. P mg Ew}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Abszisse: Mg^{++} -Konzentration. $\mu = 0.1$, $\text{pH} = 7.0$, $T = 21^\circ \text{C}$, $[NTP] = 2 \cdot 10^{-3} M$.

Mit steigender Mg^{++} -Konzentration nimmt bei allen NTP die Spaltungsrate zu und erreicht ein Optimum. Für die verschiedenen NTP liegt dieses Optimum bei verschiedenen hohen Mg^{++} -Konzentrationen. Die optimale Mg^{++} -Konzentration nimmt in folgender Reihenfolge zu: ATP < Azetyl-ATP \sim CTP \sim UTP < ITP < GTP.

Dies kommt noch deutlicher zum Ausdruck in Fig. 3b, in der die maximale Spaltung jedes einzelnen NTP gleichgesetzt — und zwar gleich 100% Spaltung gleichgesetzt — ist. Fig. 3b zeigt ausserdem, dass mit dem Absinken der Mg^{++} -Konzentration unter die jeweilige Optimalkonzentration sich die Spaltungsrate für alle NTP etwa in parallelen Kurven erniedrigen. Infolgedessen ist der Bruchteil der maximalen Spaltungsrate, der in Gegenwart von $10^{-5}M$ Mg^{++} erhalten bleibt, für das GTP am niedrigsten und für das ATP am höchsten, während sich die Spaltungsrate der übrigen NTP in derselben Reihenfolge dazwischenordnen, wie sie bereits als Reihenfolge der optimalen Mg^{++} -Konzentrationen gefunden wurde. Das aber bedeutet, dass der Mg^{++} -Bedarf der Spaltung für die einzelnen NTP verschieden ist und vom ATP zum GTP in der angegebenen Reihenfolge ansteigt.

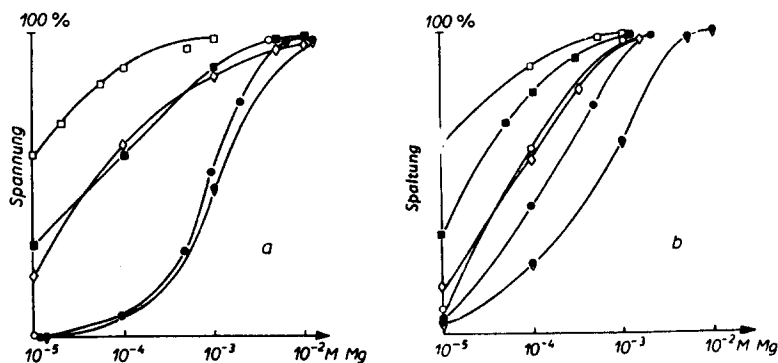


Fig. 3. Der Einfluss der Magnesium-Konzentration auf Spannung (3a) und Spaltung (3b). Abszissen: jeweils Mg^{++} -Konzentration. Ordinaten: Spannung (3a) und Spaltung (3b) in Prozenten der Spannung bzw. Spaltung, die mit dem betreffenden NTP bei optimaler Mg^{++} -Konzentration auftritt. $\mu = 0.1$, pH = 7.0, $T = 21^\circ C$.

Fig. 2 zeigt ausserdem, dass die Spaltungsmaxima, die durch optimale ATP-Konzentrationen und optimale Mg^{++} -Aktivierung erreicht werden, ebenfalls verschieden sind und vom ATP zum GTP in der gleichen Reihenfolge abnehmen wie der Mg^{++} -Bedarf der verschiedenen NTP zunimmt. Die einzige Ausnahme von dieser Regel stellt das Azetyl-ATP dar, das trotz höheren Mg^{++} -Bedarfs am Optimum der Mg^{++} -Aktivierung eine etwas höhere Spaltungsrate erreicht als das ATP selbst.

Sonst gilt der Satz: Je höher der Mg^{++} -Bedarf, umso geringer der absolute Wert der Spaltungsrate, der bei voller Mg^{++} -Aktivierung erreicht wird.

III

Die Spannungsentwicklung mit Hilfe der verschiedenen NTP folgt denselben Gesetzmässigkeiten wie die Spaltungsrate. Der Vergleich von Fig. 3a und 3b zeigt für die Grösse der Spannungsentwicklung die gleiche Reihenfolge des Mg^{++} -Bedarfes wie für die Grösse der Spaltungsrate. Auch die absoluten Werte des Mg^{++} -Bedarfs stimmen für Spannung und Spaltung weitgehend überein (vergl. Fig. 3a und 3b),

doch mag der Mg^{++} -Bedarf der Spannungsentwicklung — besonders bei GTP und ITP — ein wenig höher sein als der Mg^{++} -Bedarf der Spaltung.

Auch der absolute Betrag der Spannungsentwicklung durch die einzelnen NTP nimmt vom ATP zum GTP in der gleichen Reihenfolge ab, in der Mg^{++} -Bedarf zunimmt (Tab. I). Doch fällt hier die Sonderstellung des Azetyl-ATP fort. Denn die maximale Spannungsentwicklung durch Azetyl-ATP bleibt — im Gegensatz zur Spaltung — hinter der maximalen ATP-Spannung zurück.

TABELLE I

DIE SPANNUNGSENTWICKLUNG VON FASERMODELLEN DURCH VERSCHIEDENE NTP
IN ABHÄNGIGKEIT VON DER Mg -KONZENTRATION

<i>Mg</i> -Konzentration mol	ATP	Azetyl-ATP	CTP	UTP	JTP	GTP
$\sim 10^{-11}$ *	10	0	—	—	—	—
$\sim 10^{-5}$ **	15	—	—	—	—	—
$\sim 10^{-5}$	60	30	18	0	0	0
10^{-4}	90	55	60	—	5-10	< 3
10^{-3}	100	80	80	—	30	15
$5 \cdot 10^{-3}$	100	87	90	75	45	—
$10 \cdot 10^{-3}$	100	90	95	—	50	30

* In Gegenwart von $10^{-3}M$ Äthylendiamintetraazetat (EDTA).

** Nach Vorbehandlung mit EDTA.

Die Spannungsentwicklung durch ATP unter Optimalbedingungen ist gleich 100 gesetzt.
 $T = 21^\circ C$; $\mu = 0.1$; $pH = 7$; $[NTP] = 5 \cdot 10^{-3}M$.

IV

Spannung und Spaltung werden *proportional* vermindert: 1. wenn statt des ATP

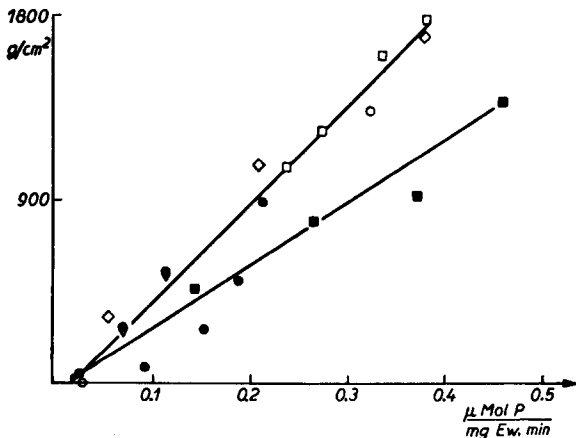


Fig. 4. Die Abhängigkeit der Spannungsentwicklung durch verschiedene NTP von der Spaltungsgeschwindigkeit der gleichen NTP. Abszisse: Spaltungsgeschwindigkeit der verschiedenen NTP unter verschiedenen Bedingungen in $\mu\text{Mol P. mg Ew.}^{-1} \text{min}^{-1}$. Ordinate: Die unter diesen Bedingungen erreichte Spannung in g/cm^2 .

andere NTP verwendet werden und 2. wenn die Aktivierung aller dieser NTP durch Mg^{++} -Mangel herabgesetzt wird.

Diese sehr weitgehende quantitative Behauptung wird durch Fig. 4 belegt, in der die Spannung aller untersuchten NTP bei allen untersuchten Mg^{++} -Konzentrationen in Abhängigkeit von der Spaltung unter gleichen Versuchsbedingungen dargestellt ist. Die Spannungsentwicklung hängt dann nur noch von der Spaltungsrate ab und wird unabhängig von der Natur der einzelnen NTP und der Vollständigkeit seiner Mg^{++} -Aktivierung. Dass die chemische Natur der einzelnen NTP und der Grad der Mg^{++} -Aktivierung auf

Spannung und Spaltung quantitativ gleich wirken, ist ein neuer und überraschender

Beweis für die ausserordentlich enge Verknüpfung von Spannung und Spaltung³³.

Aus diesem Zusammenhang fällt nur das Azetyl-ATP heraus, weil es unverhältnismässig stark gespalten wird (siehe Kap. II). Infolgedessen steigt für dieses NTP die Spannung mit der Spaltung flacher an, aber im übrigen auch gradlinig.

Dieser gradlinige Zusammenhang zwischen Spaltung und Spannung gestattet eine weitere Aussage: Die Spannung sinkt nämlich nicht erst auf den Wert Null, wenn auch die Spaltung Null geworden ist, sondern bereits bei einem Spaltungsrest von ungefähr 10% der optimalen Spaltung des ATP. Das bedeutet, dass kleine Spaltungs-raten nicht mehr zur Spannungsentwicklung führen. Dies scheint unabhängig davon zu sein, ob diese sehr kleine Spaltungsrate auf der chemischen Natur des betreffenden Polyorthophosphates beruht oder aber durch Hemmung der Spaltung von schnell spaltbaren Polyorthophosphaten durch Mg^{++} -Mangel oder Gifte bewirkt ist³⁴. So hat MORALES¹⁵ stark betont, dass anorganisches Triphosphat vom Aktomyosin zwar mit etwa 5% der ATP-Spaltungsrate gespalten wird, aber trotz der Spaltung keine Kontraktion bewirkt. Diese isolierte Beobachtung fügt sich in den angeführten allgemeineren Zusammenhang.

V

Dieser enge Zusammenhang zwischen Spaltung und Spannung hört sofort auf, wenn die verschiedene hohe Aktivierung der Spaltung nicht mehr durch Magnesium, sondern durch Calcium eingestellt wird.

Wird Fasernmodellen unter ITP statt Mg^{++} Ca^{++} zugesetzt, so bleibt die Spannung ebenso aus, wie wenn überhaupt kein Erdalkaliion hinzugefügt wäre, aber die Spaltung wird durch Ca^{++} -Zusatz für alle NTP gesteigert und zwar bis zu Ca^{++} -Konzentrationen $10^{-2}M$ (Fig. 5).

Die Aktivierung der Spaltung durch Ca^{++} in der gleichen Konzentration, in der Mg^{++} optimal aktiviert, ist für alle sechs untersuchten NTP niedriger. Da aber die Ca^{++} -Aktivierung mit steigender Konzentration weiter ansteigt, überschreiten die Spaltungs-raten von ATP und Azetyl-ATP bei Gegenwart von $10^{-2}M$ Ca^{++} die höchsten Spaltungs-raten, die durch Mg^{++} erzielbar sind. Dagegen wird die Spaltung der anderen vier NTP selbst durch $10^{-2}M$ Ca^{++} nicht über das jeweilige durch Mg^{++} produzierte Spaltungsoptimum hinaus erhöht.

Auch unter Ca^{++} werden die sechs NTP in derselben Reihenfolge der Geschwindigkeiten gespalten wie nach Mg^{++} -Aktivierung.

Literatur S. 368.

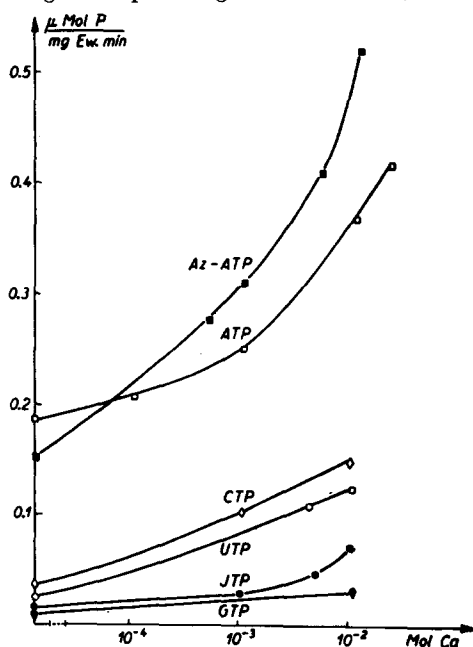


Fig. 5. Der Einfluss von Calcium auf die NTP-Spaltung im Gel. Abszisse: Calcium-Konzentration. Ordinate: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung in $\mu\text{Mol P. mg Ew}^{-1} \text{ min}^{-1}$. $\mu = 0.1$, $T = 21^\circ \text{C}$, $[\text{NTP}] = 2 \cdot 10^{-3} M$.

Die von BLUM⁶ zitierte abweichende Beobachtung von KIELLEY trifft also mindestens für die hier verwandte Ionenstärke von 0.1 μ nicht zu.

VI

Für alle sechs untersuchten NTP gilt ebenso wie für ATP nicht nur der Satz, dass das Aktomyosin kontrahiert, wenn die NTP gespalten werden, sondern auch, dass das Aktomyosin aus dem Zustand der Starre in den Zustand der mehr oder minder grossen Plastizität übergeht, wenn die Spaltung des anwesenden NTP verhindert wird. Alle NTP sind Weichmacher. Das war zu erwarten, weil alle bisher untersuchten Polyorthophosphate (auch Pyrophosphat, anorganisches Triphosphat¹⁶ und ADP) Weichmacher sind.

Auch die Weichmacherwirkung der verschiedenen einzelnen Polyphosphate hat (1) einen Mg^{++} -Bedarf verschiedener Höhe und ist (2) auch bei maximaler Aktivierung durch Mg^{++} verschieden gross.

Ferner gilt auch für die Weichmacherwirkung die Regel: je grösser der Mg^{++} -Bedarf ist, umso geringer ist die optimale Weichmacherwirkung (Tab. II).

TABELLE II
DER EINFLUSS DER Mg -KONZENTRATION AUF DIE WEICHMACHERWIRKUNG
DER VERSCHIEDENEN POLYPHOSPHATE

Mg Konzentration mol.	Dehnungswiderstand in Prozenten des Starrewertes. Starrewert $\sim \frac{10 \text{ kg}}{\text{cm}^2}$ ist gleich 100 gesetzt											
	ATP		GTP		JTP		Azetyl-ATP	CTP	UTP	ADP	Pyrophosphat	
	0° C	20° C	0° C	20° C	0° C	20° C	0° C	0° C	0° C	0° C	0° C	20° C
$\sim 10^{-11}^*$	18	25	60-80	30	100	60	90-100	100	100	100	100	100
$\sim 10^{-5}^{**}$	7-10	7-10	40-50	—	50-60	30-40	50-70	70-80	60-70	—	—	—
$\sim 10^{-5}$	3-6	3-6	15	15	30-40	20-30	50-70	40-50	20-30	100	100	100
$\sim 10^{-3}$	4	4	—	10	—	—	—	—	—	20	40-60	—
$5 \cdot 10^{-3}$	2-3	2-3	2-3	10	—	15	—	20	10-20	10	20	20
$\sim 10^{-2}$	2-3	2-3	2-3	7	—	10	10	—	—	8	20	20

$\mu = 0.1$; pH = 7.0; [NTP] = $5 \cdot 10^{-3} M$.

* In Gegenwart von $10^{-2} M$ EDTA.

** Nach Vorbehandlung mit EDTA.

Dagegen ist die Reihenfolge der Polyphosphate, in der der Mg^{++} -Bedarf zunimmt und die optimale Weichmacherwirkung abnimmt, verschieden von der analogen Reihenfolge für Spaltung und Spannung. Der Mg^{++} -Bedarf nimmt zu (und die optimale Weichmacherwirkung nimmt ab) in der Reihenfolge ATP < GTP < ITP \sim Azetyl-ATP < ADP \sim CTP \sim UTP < PP (Vergl. Tab. II).

Die Aktivierung der Weichmacherwirkung nimmt auch in Gegenwart hoher Mg^{++} -Konzentrationen nicht wieder ab.

Der Mg^{++} -Bedarf der Weichmacherwirkung der in Tab. II angeführten sechs NTP ist beträchtlich niedriger als der Mg^{++} -Bedarf der Spaltung und Kontraktion der gleichen Substanzen. Während Spaltung und Kontraktion bei einer Mg^{++} -Konzentration $\sim 10^{-5} M$ für ITP, UTP und GTP vollständig fehlen, ist die Weichmacherwirkung noch immer beträchtlich. Für ATP und Azetyl-ATP ist die Weichmacherwirkung in Gegenwart von $10^{-5} M$ Mg^{++} sogar fast maximal.

Diese Feststellung spricht dafür, dass das Mg^{++} in die Reaktionskette, die von der weichmachenden Bindung der NTP an das Aktomyosin bis zur NTP-Hydrolyse und gleichzeitigen Kontraktion führt, mindestens zweimal eingreift. Für das erste Eingreifen — die Weichmacherwirkung — genügt eine sehr geringe Mg^{++} -Konzentration, für das zweite Eingreifen — während der ATP-Hydrolyse und Kontraktion — wird eine wesentlich höhere Mg^{++} -Konzentration benötigt.

Dass das Mg^{++} als Co-Faktor der Weichmacherwirkung und der Kontraktion durch Ca *nicht* ersetzt werden kann — wohl aber als Co-Faktor der NTP-Spaltung —, macht es wahrscheinlich, dass es sich bei der Wechselwirkung zwischen NTP und Aktomyosin nicht um eine einzige Reaktion, sondern um eine Reaktionskette handelt, der wahrscheinlich auch noch verschiedene Reaktionswege offen stehen.

Weniger wesentlich erscheint die Tatsache, dass die Weichmacherwirkung — *ceteris paribus* — mit steigender NTP-Konzentration zunimmt (Tab. III).

TABELLE III

ABHÄNGIGKEIT DES DEHNUNGSWIDERSTANDES VON DER NTP-KONZENTRATION

ATP		JTP	
Konzentration $\cdot 10^3$ mol.	Dehnungswiderstand in Prozenten des Starrewertes	Konzentration $\cdot 10^3$ mol.	Dehnungswiderstand in Prozenten des Starrewertes
0	100	0	100
1-1.25	20-25	2.5-3	15-25
4	5-10	8-9	7-12
10	1-2	20	4-6

$T = 0^\circ C$; $\mu = 0.1$; $[Mg] \gtrsim 10^{-5} M$; $pH = 7$.

Die Weichmacherwirkung nimmt ebenfalls zu, wenn die Temperatur gesenkt wird, obwohl die Senkung der Temperatur ohne Zugabe eines Weichmachers den Dehnungswiderstand der Fasermodelle nicht vermindert (Tab. II).

VII

Dass ein Teil der untersuchten NTP bis zu einer NTP-Konzentration von $10^{-2} M$ keiner Eigenhemmung (Substrathemmung), weder der Spannungsentwicklung noch der Spaltung, unterliegt, führt zu der Frage nach der Hemmbarkeit von Spaltung und Spannung durch den Marsh-Faktor^{17, 18, 19, 31}. Denn es sieht so aus, als beruhe die Wirkung des Erschlaffungsfaktors darauf, dass der Bereich der überoptimalen Substratkonzentration (Substrathemmung) so weit zu niedrigeren Konzentrationen verschoben wird, dass die physiologischen NTP-Konzentrationen nicht gespalten und nicht mehr zur Spannungsentwicklung verwendet werden.

Die Untersuchung zeigt, dass in Anwesenheit des von MARSH¹⁷ entdeckten erschlaffenden Faktors die Spannungsentwicklung der Fasermodelle vollständig verhindert oder aufgehoben wird nur durch ATP, Azetyl-ATP und CTP. Die Hemmung beginnt bei Azetyl-ATP und CTP mit etwa der physiologischen ATP-Konzentration von $\sim 7 \cdot 10^{-3} M$ und beginnt mit ATP schon bei viel niedrigeren Konzentrationen (Tab. IV). Dagegen ist mit ITP, GTP und UTP selbst bei einer Substratkonzentration

von $10^{-3}M$ nicht einmal die geringste Teilhemmung durch den erschlaffenden Faktor zu beobachten.

TABELLE IV

DIE WIRKUNG DES "RELAXING"-(MARSH-) FAKTORS AUF KONTRAKTIONEN,
DIE DURCH VERSCHIEDENE NTP ERZEUGT WERDEN

NTP	Minimalkonzentrationen der NTP, die die Spannung in Gegenwart des Erschlaffungs-faktors vernichten	NTP Konzentration im lebenden Muskel (3) (4) ⁺
ATP	$2.5 \cdot 10^{-3} M$	$3-4 \cdot 10^{-3} M$
Azetyl ATP	$7.5 \cdot 10^{-3} M$	—
CTP	$5-10 \cdot 10^{-3} M$	$0.1 \cdot 10^{-4} M$
UTP	bis $10 \cdot 10^{-3} M$ nichts	$1 \cdot 10^{-4} M$
JTP	bis $10 \cdot 10^{-3} M$ nichts	$1.5 \cdot 10^{-3} M$ (10)
GTP	bis $10 \cdot 10^{-3} M$ nichts	$0.5 \cdot 10^{-4} M$

$T = 20^{\circ} C$; $\mu = 0.1 M$; $[Mg] = 0.01 M$; $pH = 7$.

* Die Konzentrationen der NTP: ATP, CTP, UTP und GTP sind nach BERGKVIST UND DEUTSCH^{3,4} angegeben. Die Konzentrationsangabe des ITP's bezieht sich auf eine Modifikation des ITP, die nach McLAUGHLIN, SCHIFFMANN UND SZENT-GYÖRGYI¹⁰ neben $3-4 \cdot 10^{-3} M$ ATP im Muskel vorhanden sein soll. In der älteren Literatur sind für ATP allein höhere Konzentrationen angegeben³⁰. Diese Werte sind in der Tabelle nicht berücksichtigt, da auch das Verhältnis der Konzentrationen des ATP zu den anderen NTP unverzerrt dargestellt werden sollte.

VIII

Der Wechsel zwischen Ruhe, Kontraktion und Erschlaffung des lebenden Muskels setzt voraus, dass das kontraktionswirksame NTP vom Muskel nach Bedarf in seiner Wirksamkeit vollständig gehemmt oder enthemmt werden kann. Dies ist gesichert nur für ATP, das im lebenden Muskel in einer Konzentration vorhanden ist, die nach Inaktivierung des Erschlaffungsfaktors optimal für die Kontraktion und nach Aktivierung des erschlaffenden Faktors völlig unverwendbar ist. Ebenso scheint sicher, dass eine abwechselnde Hemmung von ITP, GTP und UTP in Anbetracht der im Muskel vorhandenen NTP-Konzentration ausscheidet^{3,4,10}. Da Azetyl-ATP im lebenden Muskel fehlt, besteht eine gewisse Unsicherheit über eine physiologische Hemmung und Enthemmung durch den Marsh-Faktor nur noch für CTP. Denn CTP ist zweifellos im Muskel in so niedriger Konzentration vorhanden, dass der erschlaffende Faktor unwirksam sein sollte. Auf der anderen Seite ist vorläufig noch offen, ob die Substrathemmung funktionell nahe verwandter Nukleosidtriphosphate — wie ATP und CTP — von der Konzentration des einzelnen NTP abhängt oder von der Summe der beiden Einzelkonzentrationen. Nur im letzteren Fall könnte unter physiologischen Bedingungen vielleicht auch mit einer CTP-Hemmung durch den Marsh-Faktor gerechnet werden (Tab. IV).

Durch diese Überlegungen wird die unmittelbare Beteiligung aller im Muskel vorhandener NTP mit Ausnahme von ATP und CTP ausserordentlich unwahrscheinlich, während die Stellung des ATP als unmittelbar energieliefernder Teilnehmer der Kontraktionsreaktion erheblich an Wahrscheinlichkeit gewinnt.

Dazu kommt, dass von den physiologischen NTP nur ATP und CTP zu einer Spannungsentwicklung in der Lage sind, die der isometrischen Spannung lebender Muskeln gleicht. Denn nur ATP und CTP werden von Aktomyosin unter optimalen Bedingungen mit der notwendigen Geschwindigkeit gespalten.

Wird berücksichtigt, dass die im Muskel vorhandene Nudiki von BERG UND JOKLIK^{11,12} von UTP und ITP auf ADP und von ATP auf UDP und IDP transphosphoryliert, so liegt der Verdacht nahe, dass Nudiki ebenso auch von CTP und GTP auf ADP umphosphorylieren kann. Wenn diese bisher nicht geprüfte Annahme richtig ist, fallen alle Diskrepanzen zwischen den Studien über die Wechselwirkung des Aktomyosin mit den verschiedenen NTP einerseits und den Ergebnissen von FLECKENSTEIN und Mitarbeitern⁸ sowie MOMMAERTS⁹ andererseits fort. Denn dann mag die Konstanz an den schon lange bekannten energieliefernden Substanzen im Gehalt des lebenden Muskels darauf beruhen, dass das ATP aus den anderen NTP regeneriert wird.

Die berichtete relative Spezifität der Reaktion der verschiedenen NTP scheint mit der chemischen Konstitution der einzelnen NTP in folgender Weise verknüpft zu sein:

Spannungsentwicklung und Spaltungsrate sind dann gross und der Mg^{++} -Bedarf dann klein, wenn in der 6-Stellung des Ringes sich eine NH_2 -Gruppe befindet. Denn das Azetyl-ATP ist nicht an der NH_2 -Gruppe, sondern an der Ribose azetyliert (s. techn. Teil). Spannung und Spaltung nehmen ab und der Mg^{++} -Bedarf zu, wenn diese Aminogruppe durch eine OH-Gruppe ersetzt ist. Der Ersatz der Aminogruppe durch die OH-Gruppe scheint nicht so stark zu wirken, wenn gleichzeitig in der 2-Stellung eine OH-Gruppe vorhanden ist (UTP). Er scheint besonders stark zu wirken, wenn sich in der 2-Stellung eine Aminogruppe befindet (GTP). Überraschend ist die Tatsache, dass der Mg^{++} -Bedarf von Spannung und Spaltung der verschiedenen NTP nur sehr untergeordnet davon abhängt, ob der die funktionellen Gruppen tragende Ring ein Purin oder Pyrimidinring ist.

Auch die Substrathemmung (Eigenhemmung) durch überoptimale Konzentration der einzelnen NTP und die damit zusammenhängende Wirkung des Marsh-Faktors hängen in gleicher Weise von der Verteilung der funktionellen Gruppen am Pyrimidinring oder am Pyrimidinanteil des Purinringes ab.

Dagegen dominiert die Natur des Ringes völlig über Art und Ort der funktionellen Gruppen, sowie es sich um die Weichmacherwirkung handelt. Denn die Weichmacherwirkung wird durch die Einfügung von Purinnukleosiden in die Phosphatkette mehr verstärkt als durch die Einführung von Pyrimidinnukleosiden — unabhängig von der speziellen Konstitution der Purin — oder Pyrimidinringe.

ANHANG

DIE BEDEUTUNG DER NUKLEOSIDDIPHOSPHOKINASE FÜR DIE NUKLEOSIDTRIPHOSPHATASE-AKTIVITÄT DES AKTOMYOSIN

Es ist durch BERG UND JOKLIK^{11,12} festgestellt, dass die von ihnen entdeckte Nukleosiddiphosphokinase (Nudiki) von allen bisher untersuchten NTP umphosphoryliert auf alle bisher untersuchten Nukleosiddiphosphate (NDP), d.h. von ATP, ITP und UTP auf die entsprechenden Diphosphate. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass das gleiche für die übrigen NTP und NDP gilt, die in der vorstehenden Arbeit untersucht sind.

Es ist ferner durch PERRY²⁰ bekannt, dass Aktomyosinstrukturen Spuren von ADP ($3 \cdot 10^{-6}$ Mol/g Eiweiss) fest gebunden enthalten.

Es wäre also denkbar, dass die Aktomyosinstrukturen durch einen gewissen

Gehalt an Nudiki dieses ADP mit Hilfe der zugesetzten NTP: GTP, ITP, UTP usw. zu ATP aufphosphorylieren. In diesem Falle könnte die Wechselwirkung zwischen Aktomyosin und allen anderen NTP — ausser ATP — in Wirklichkeit eine Wechselwirkung mit dem ATP sein, das mit Hilfe der anderen NTP aufgebaut ist.

Diese Deutung ist unwahrscheinlich, denn

1. scheint das fest gebundene ADP für die Verwandlung in ATP durch umphosphorylierende Fermente unzugänglich zu sein. Schon PERRY²¹ hat festgestellt — und das kann bestätigt werden —, dass es unmöglich ist, mit Kreatinphosphat und Kreatinphosphokinase das gebundene ADP in ATP zu verwandeln. Dies gilt unter genau den gleichen Bedingungen der Konzentration der Reaktionsteilnehmer, unter denen freies ADP in ATP umgewandelt wird.

2. sollte man erwarten, dass die Wechselwirkung zwischen den erwähnten NTP und Aktomyosin für alle untersuchten NTP quantitativ übereinstimmt, wenn in Wirklichkeit die unmittelbare Wechselwirkung immer mit dem gleichen durch Nudiki erzeugten ATP-Betrag stattfindet.

Diesem Einwand kann man sich nur entziehen, wenn man annimmt, dass die Nudiki aus dem Aktomyosin-gebundenen ADP ungleiche ATP-Beträge herstellt.

Das was in der vorstehenden Arbeit als Spezifitätsunterschiede der Aktomyosin-ATPase gegenüber den verschiedenen Aktomyosin-NTPasen dargestellt wird, wäre dann in Wirklichkeit eine unterschiedliche Spezifität der Nudiki gegenüber den verschiedenen NTP. Hierfür finden sich in der vorliegenden Nudiki-Literatur keine Anhaltspunkte.

3. Schliesslich dürfte kein anderes NTP ausser ATP stärkere Wechselwirkungen mit Aktomyosin zeigen, als es das ATP selbst in der Konzentration zeigen würde, die mit Hilfe von Nudiki und dem Aktomyosin-gebundenen ADP maximal entstehen kann. Wenn die durch das Aktomyosin eingeschleppte ADP-Menge oder das daraus entstandene ATP sich im ganzen Versuchsansatz gleichmässig verteilen sollte, würde die maximal mögliche ATP-Konzentration etwa $10^{-6}M$ im Spaltungsansatz und $10^{-9}M$ im Kontraktionsansatz betragen. Nimmt man dagegen an, die maximal mögliche ATP-Menge bleibe im Inneren der Aktomyosinflocken oder der gewaschenen Fibrillen, so beträgt in den Flocken (Eiweissgehalt etwa 2%) die ATP-Konzentration $6 \cdot 10^{-5}M$ und in den Fibrillen (Aktomyosingehalt 12%) $3.6 \cdot 10^{-4}M$.

Die Wechselwirkung zwischen ATP und Aktomyosin in den Konzentrationen 10^{-6} bis $10^{-9}M$ ist zweifellos beträchtlich untermaximal. Es ist wahrscheinlich, dass sie auch noch in der Konzentration $3 \cdot 10^{-4}M$ etwas untermaximal ist. Die Wechselwirkung zwischen Aktomyosin und Azetyl-ATP und CTP ist aber bei der optimalen Konzentration dieser NTP etwa ebenso gross wie zwischen Aktomyosin und ATP in optimaler Konzentration (vergl. Fig. 2 und Tab. I). Mindestens für diese NTP scheidet damit die Möglichkeit einer indirekten Wechselwirkung aus.

Die Deutung, Nudiki sei an dem Umsatz der anderen NTP — ausser ATP — beteiligt, scheidet aus, wenn die Aktomyosinflocken und -fibrillen kein Nudiki enthalten. Es konnten aber Umphosphorylierungen, durch die aus einem Triphosphat ein anderes gebildet wird, nie entdeckt werden, wenn die Fibrillensuspensionen so gründlich gewaschen werden, dass die Verdünnung der wasserlöslichen Inhaltsstoffe 10^{-6} beträgt (z.B. 6 Waschungen mit je 15-facher Verdünnung des Fibrillensediments). Es kann aber nicht ganz sicher ausgeschlossen werden, dass eine spurenweise Verwandlung eines Triphosphats in ein anderes Triphosphat durch sehr wenig Nudiki

der Entdeckung entgeht, weil die Aktomyosinpräparate das etwa gebildete neue Triphosphat zu schnell wieder spalten²⁰.

Folgende Beobachtung scheint die Gegenwart und den Einfluss von Nudiki einwandfrei zu widerlegen:

Werden die angewandten Aktomyosinpräparate mit $5 \cdot 10^{-3} M$ Ca^{++} aktiviert, so ist die ITP-Spaltung durch gelförmiges Aktomyosin bei niedriger Ionenstärke sehr klein, dagegen die ATP-Spaltung sehr beträchtlich, etwas zehnmal grösser.

Wird nun einem ITP-Ansatz des benutzten Aktomyosin ein teilweise gereinigtes Nudikipräparat zugesetzt, so steigt die ITP-Spaltung hierdurch nicht. Sie wird sogar schwach, aber deutlich verkleinert, weil das Nudikipräparat offenbar einen Hemmstoff enthält (Fig. 6a u. 6b).

Dieser Befund könnte — isoliert betrachtet — damit erklärt werden, dass ein etwaiger Nudikigehalt des Aktomyosinpräparates bereits genügt, um das "gebundene" ADP mit maximaler Geschwindigkeit in ATP zu verwandeln. Wird nun aber zu der ITP- und Nudiki-haltigen Aktomyosinpräparation ADP hinzugefügt, so steigt die Spaltungsgeschwindigkeit bis zu einem Optimum ausserordentlich steil an und bleibt noch bei einer zehnfach optimalen ADP-Konzentration ausserordentlich viel höher als ohne ADP (Fig. 6b, Kurve 2).

Wird dagegen einem ITP-Ansatz des Aktomyosin *ohne Nudiki* ADP hinzugefügt, so fällt die Spaltung mit steigender ADP-Konzentration sehr steil ab (Fig. 6a).

Dieses gegensätzliche Verhalten muss offensichtlich so erklärt werden: Wenn kein Nudiki zugegen ist, wird die ITP-Spaltung durch Aktomyosin infolge der Anwesenheit von ADP gehemmt²². Sowie Nudiki zugegen ist, kommt aber diese Hemmung nicht mehr zur Geltung, weil jetzt das ITP in das leicht spaltbare und durch ADP wenig hemmbare ATP überführt wird^{22,23} (Fig. 6b, Kurve 1).

Infolgedessen wird die Abnahme der eigentlichen ITP-Spaltung weit überkompensiert und verdeckt durch die in Nudikigegenwart

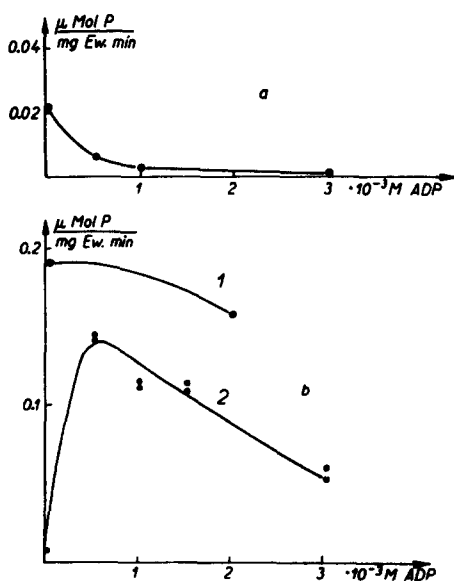


Fig. 6. Der Einfluss von ADP auf die Spaltung von $0.9 \cdot 10^{-3} M$ ITP. a. ohne Nudikizusatz; b. mit Nudikizusatz. Kurve 1: Zum Vergleich die Spaltung von $1 \cdot 10^{-3} M$ ATP in Abhängigkeit von der ADP-Konzentration. Ordinaten: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung in $\mu\text{Mol P. mg Ew}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Abszissen: ADP-Konzentration. $\mu = 0.1$, $T = 21^\circ C$. $pH = 7.0$.

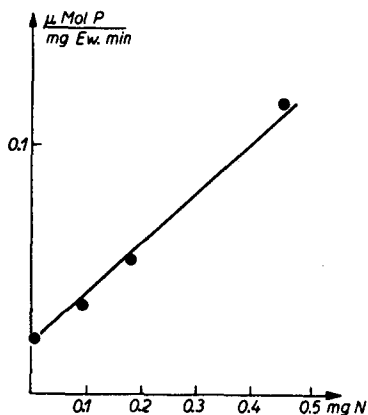


Fig. 7. Der Einfluss der Nudikikonzentration auf die Spaltung von $0.9 \cdot 10^{-3} M$ ITP in Anwesenheit von $1 \cdot 10^{-3} M$ ADP. Ordinate: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung in $\mu\text{Mol. P. mg Ew}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Abszisse: mg Stickstoff des unvollständig gereinigten Nudikipräparates. $\mu = 0.1$, $T = 21^\circ C$, $pH = 7.0$.

einsetzende viel schnellere Spaltung des Umwandlungsproduktes ATP. Die Tatsache, dass ADP-Zugabe bei Gegenwart von Nudiki die ITP-Spaltung fördert — und zwar umso mehr, je mehr Nudiki zugegeben wird (Fig. 7) —, dass dagegen die Spaltung unserer Präparate durch ADP gehemmt wird, scheint einwandfrei zu zeigen, dass unsere Präparate kein Nudiki enthalten.

TECHNISCHER TEIL

Das Aktomyosin wurde nach PORTZEHL, SCHRAMM UND WEBER hergestellt²⁴. Die Zahl der Umfaltungen wurde jedoch auf sechs erhöht, so dass die Konzentration der wasserlöslichen Inhaltsstoffe des Muskels auf etwa das 10^6 -fache verdünnt wurde.

Die Nukleosiddiphosphokinase wurde nach dem von BERG UND JOKLIX¹² angegebenen abgekürzten Verfahren präpariert und zur Entfernung des freien Phosphates 24 Stunden gegen $0.1 M$ KCl dialysiert.

Zur Herstellung des "relaxing factor" nach MARSH UND BENDALL^{17,18} wurde gekühlter Kaninchenmuskel mit seinem 2–3 fachen Volumen einer Lösung von $0.1 M$ KCl, $0.01 M$ Oxalat, $0.01 M$ Mg^{++} und $0.005 M$ Phosphatpuffer (pH 7.0) 4 min im Blendor zerkleinert. Nach Abzentrifugieren des Fibrillenbreis wurde die überstehende Lösung 24 Stunden dialysiert. Die Aussenflüssigkeit der Dialyse, deren Volumen etwa das 20-fache der Innenflüssigkeit war, hatte die gleiche Zusammensetzung wie die Extraktionsflüssigkeit und wurde 3–4 mal gewechselt. Bei der Dialyse ausgefallenes Protein wurde abzentrifugiert.

ATP (Lot Nr. 128 und Nr. 131), CTP (Lot Nr. 1301) und ADP (Lot Nr. 609) waren Präparate der Firma Pabst*. Die chromatographische Prüfung mit Isobuttersäure (100 ml), Ammoniak 1 N (60 ml)²⁵ ergab bei ATP eine geringfügige Verunreinigung an ADP. CTP enthielt Spuren von CDP. ADP war durch kleine Mengen von AMP verunreinigt. GTP und UTP wurden von der Firma Sigma** bezogen. GTP war durch kleine Mengen GDP und UTP durch kleine Mengen UDP verunreinigt. ITP wurde nach KLEINZELLER²⁶ aus ATP (Firma Pabst und Firma Henning***) hergestellt. Der IDP-Gehalt des ITP aus ATP der Firma Henning betrug etwa 10–20%. Das ITP aus Pabst'schem ATP war nur durch Spuren von IDP verunreinigt. ADP war in keinem der Präparate — ausser in ATP — enthalten. Azetyl-ATP wurde aus ATP von Pabst durch Azetylierung mit Essigsäureanhydrid in kalter ($0^\circ C$) gesättigter Natriumacetatlösung bei pH 7 hergestellt. Die chromatographische Prüfung ergab geringe Verunreinigungen durch nicht umgesetztes ATP. Der relative RF-Wert des Azetyl-ATP, bezogen auf ATP, in Isobuttersäure-Ammoniumisobutytrat (Papier: Firma Macherey, Nagel & Co., Düren, Nr. 61) ist 1.9–2.0. Das Phosphat-Stickstoff-verhältnis des Azetyl-ATP war das gleiche wie das des Ausgangsmaterial verwendeten ATP. Das Verhältnis P 7 min zu Azetyl betrug 0.94, d.h. das Azetyl-ATP-Molekül enthält zwei Azetylgruppen. Da unter den gleichen Azetylierungsbedingungen Adenin nicht azetyliert wird, wohl aber Adenosin, müssen die beiden OH-Gruppen der Ribose azetyliert worden sein. Eine Azetylierung an der NH_2 -Gruppe des Purinringes scheidet auch deshalb aus, weil das Azetyl-ATP wie ATP und Adenin bei $260 m\mu$ absorbiert und nicht wie 6-Acetamidopurin bei 283 – $284 m\mu$ ²².

Die Ionenstärke der 2–10 ml grossen Spaltungsansätze betrug immer 0.1μ , der pH 7.0 und die Eiweisskonzentration 0.03–0.05%. Phosphat wurde nach ROCKSTEIN UND HARRON²⁸ bestimmt.

Als Fasermodelle wurden Einzelfasern und Faserbündel $< 160 \mu$ Durchmesser verwendet, die aus Psoasfasern des Kaninchen nach Extraktion mit 50%igem Glycerin präpariert wurden.

Die Messungen der Spannungen und der Dehnungswiderstände wurden mit dem von A. WEBER²⁷ beschriebenen Dilatometer vorgenommen.

Bei den Spannungsmessungen wurde für jede einzelne Faser nach der Beobachtung der Spannungsentwicklung mit dem jeweiligen NTP und der jeweiligen Mg^{++} -Konzentrationen die mit $ATP\ 5 \cdot 10^{-3} M + 5 \cdot 10^{-3} M\ Mg^{++}$ entwickelte Spannung gemessen und als 100 Einheiten der Spannung verwendet.

Vor der Messung der Dehnungswiderstände der Modelle in Gegenwart der verschiedenen Polyphosphate wurde der Dehnungswiderstand des starren Modells ermittelt. Der Starrewert verändert sich weder durch Mg^{++} ($< 10^{-3} M$) noch durch Zusatz von Äthylendiamintetraacetat ($10^{-3} M$) zur polyphosphatfreien Badflüssigkeit ($0.1 M$ KCl, $0.01 M$ Phosphatpuffer, pH 7.0). Er zeigt keine merkliche Abhängigkeit von der Temperatur.

* Pabst Laboratories, Milwaukee, Wis., U.S.A.

** Sigma Chemical Company, St. Louis, U.S.A.

*** Dr. GEORG HENNING, Berlin-Tempelhof.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Spaltung, Spannung und Weichmacherwirkung der Nukleosidtriphosphate (NTP) werden durch Magnesiumionen aktiviert.

2. Der Mg^{++} -Bedarf für Spaltung und Spannung jedes einzelnen NTP ist gleich. Der Mg^{++} -Bedarf für die Weichmacherwirkung der einzelnen NTP ist viel kleiner.

3. Der Mg^{++} -Bedarf der Spaltung und Spannung nimmt vom ATP zum GTP zu in der Reihenfolge:



In der gleichen Reihenfolge wird die Spannungsentwicklung bei voller Mg^{++} -Aktivierung kleiner. Das gleiche gilt für die Spaltung (mit Ausnahme von Azetyl-ATP).

4. Die Grösse der Spannungsentwicklung hängt immer von der Grösse der Spaltungsrate ab. Es ist dabei gleichgültig, ob die Spaltungsraten deshalb verschieden gross sind, weil die Spaltung des gleichen NTP durch Mg^{++} in verschiedenem Umfang aktiviert ist. Nur Azetyl-ATP entwickelt bei gleicher Spaltung weniger Spannung als die anderen NTP.

5. Der Mg^{++} -Bedarf der Weichmacherwirkung nimmt zu in der Reihenfolge:



In der gleichen Reihenfolge nimmt die Weichmacherwirkung bei maximaler Mg^{++} -Aktivierung ab:

6. Die Verschiedenheit der NTP-Reihen für Spannung und Spaltung einerseits und für den Weichmachereffekt andererseits zeigt: Hohe Spannungen und Spaltungen werden erzeugt, wenn das betreffende NTP eine NH_2 -Gruppe in 6-Stellung enthält — gleichgültig ob im Purin- oder Pyrimidinring. Der Weichmachereffekt ist dagegen bei den Purinderivaten grösser als bei Pyrimidinderivaten — unabhängig vom Vorhandensein der NH_2 -Gruppe in 6-Stellung in den Ringssystemen.

7. Weichmacherwirkung und Spannungsentwicklung werden — im Gegensatz zur Spaltung — durch Ca^{++} -Ionen nicht aktiviert.

8. Der "relaxing factor" (MARSH) wirkt nur in Anwesenheit von ATP in Konzentrationen $> 2 \cdot 10^{-3} M$ oder von Azetyl-ATP und CTP in Konzentrationen $\geq 8 \cdot 10^{-3} M$.

9. Der "relaxing factor" wirkt dagegen nicht bei Anwesenheit von ITP, UTP und GTP in Konzentrationen bis $10^{-3} M$.

10. Es wird gezeigt, dass die Wechselwirkung zwischen Aktomyosin und den NTP nicht etwa darauf beruht, dass ATP aus dem gebundenen ADP des Aktomyosin und den anderen NTP durch Nukleosiddiphosphokinase gebildet wird.

SUMMARY

1. Splitting, tension and relaxing effect of nucleosidetriphosphate (NTP) are activated by magnesium ions.

2. For each NTP the Mg^{++} requirement is the same for splitting and tension. The Mg^{++} requirement for the relaxing effect is much less.

3. The amount of Mg^{++} required for hydrolysis and tension increases from ATP to GTP in the order



With more complete Mg^{++} activation the development of tension decreases in the same order. This also applies for the splitting (with the exception of acetyl-ATP).

4. The extent of tension development always depends on the extent of the rate of splitting. It is thus immaterial whether or not the rates of splitting are of varying magnitude since the splitting of the same NTP by Mg^{++} is activated to a varying extent. Only acetyl-ATP develops with equal splitting less tension than the other NTP's.

5. The Mg^{++} requirement for the relaxing effect increases in the order:



When the Mg^{++} activation is maximal the relaxing effect decreases in the same order.

6. The diversity of the NTP succession for tension and splitting on the one hand and for the relaxing effect on the other shows that considerable tension and splitting is produced when the NTP concerned contains an NH_2 group in the 6-position — whether in the purine or the pyrimidine ring. The relaxing effect is by comparison greater with purine derivatives than with pyrimidine derivatives, independent of the presence of the NH_2 group in the 6-position in the ring system.

7. The relaxing effect and tension development, in contrast to splitting, are not activated by Ca^{++} ions.

8. The "relaxing factor" (MARSH) works only in the presence of ATP in concentrations $> 2 \cdot 10^{-3} M$ or of acetyl-ATP and CTP in concentrations $< 8 \cdot 10^{-3} M$.

9. The "relaxing factor" does not, however, work in the presence of ITP, UTP and GTP in concentrations up to $10^{-2} M$.

10. It is shown that the inter-action between actomyosin and NTP's does not depend on the fact that ATP is built up from the bound ATP of the actomyosin and the other NTP by means of nucleodiphosphokinase.

LITERATUR

- 1 S. S. SPICER AND W. J. BOWEN, *J. Biol. Chem.*, 188 (1951) 741.
- 2 R. BERGVIST UND A. DEUTSCH, *Acta Chem. Scand.*, 8 (1954) 1105.
- 3 R. BERGVIST UND A. DEUTSCH, *ibid.*, 8 (1954) 1880.
- 4 R. BERGVIST UND A. DEUTSCH, *ibid.*, 8 (1954) 1889.
- 5 R. BERGVIST UND A. DEUTSCH, *Acta Chem. Scand.*, 7 (1953) 1307.
- 6 W. W. KIELLEY, nach J. J. BLUM, *Arch. Biochem. Biophys.*, 55 (1955) 486.
- 7 R. E. RANNEY, *Federation Proc.*, 14 (1955) 118.
- 8 A. FLECKENSTEIN, J. JANKE, R. E. DAVIES AND H. A. KREBS, *Nature*, 174 (1954) 1081.
- 9 W. F. H. M. MOMMAERTS, *Nature*, 174 (1954) 1083.
- 10 J. McLAUGHLIN, G. SCHIFFMANN AND A. SZENT-GYÖRGYI, *Biochim. Biophys. Acta*, 17 (1955) 160.
- 11 P. BERG UND W. JOKLIK, *Nature*, 172 (1953) 1008.
- 12 P. BERG UND W. JOKLIK, *J. Biol. Chem.*, 210 (1954) 657.
- 13 W. HASSELBACH, *Z. Naturforsch.*, 7b (1952) 163.
- 14 E. HEINZ UND F. HOLTON, *Z. Naturforsch.*, 7b (1952) 386.
- 15 E. TRAVER UND M. F. MORALES, *J. Cellular Comp. Physiol.*, 37 (1952) 235.
- 16 H. PORTZEHL, *Z. Naturforsch.*, 7b (1952) 1.
- 17 B. B. MARSH, *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 247.
- 18 J. R. BENDALL, *J. Physiol.*, 121 (1953) 232.
- 19 W. HASSELBACH UND H. H. WEBER, *Biochim. Biophys. Acta*, 11 (1953) 160.
- 20 S. V. PERRY, *Biochem. J.*, 51 (1952) 495.
- 21 S. V. PERRY, *Biochem. J.*, 57 (1954) 427.
- 22 J. J. BLUM, *Arch. Biochem. Biophys.*, 55 (1955) 486.
- 23 W. F. H. M. MOMMAERTS, *J. Biol. Chem.*, 210 (1954) 695.
- 24 H. PORTZEHL, G. SCHRAMM UND H. H. WEBER, *Z. Naturforsch.*, 5b (1950) 61.
- 25 H. A. KREBS UND R. HEMS, *Biochim. Biophys. Acta*, 12 (1953) 172.
- 26 A. KLEINZELLER, *Biochem. J.*, 36 (1942) 729.
- 27 A. WEBER, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 214.
- 28 M. ROCKSTEIN AND P. W. HARRON, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 1500.
- 29 M. ULBRECHT UND G. ULBRECHT, unveröff. Versuche.
- 30 M. DUBUISSON, *Arch. intern. physiol.*, 52 (1942) 439.
- 31 J. R. BENDALL, *Proc. Roy. Soc. London*, B 142 (1954) 409.
- 32 D. H. MARRIAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 13 (1954) 278.
- 33 H. PORTZEHL, *Z. Naturforsch.*, 6b (1951) 355.
- 34 H. PORTZEHL, *Biochim. Biophys. Acta*, 14 (1954) 195.

Eingegangen am 1. August 1955