

Glykogen tropfen finden sich weiter im Epithel des *Plexus chorioideus* und vor allem auch in den ependymalen Gliazysten, deren Ausläufer richtige Strassen zum Glykogen transport zu bilden scheinen.

Es wird eine Arbeitshypothese aufgestellt, nach der das Glykogen, eine wichtige Energiequelle wie ein Baustein mehr komplexer chemischer Verbindungen, gebildet in der bei Amphibien mächtig entwickelten Paraphyse, in die ventrikuläre Cerebrospinalflüssigkeit gelangt, um von dort aus von den ependymalen Gliazysten aufgenommen und in das nervöse Parenchym hinein transportiert zu werden, wo es eine Rolle bei der Metabolie und dem strukturellen Aufbau spielen kann.

Befunde aus der Frühentwicklung  
des Rattenkeimes als Beitrag zur Rhythmik  
der Entwicklung

Rhythmik und Polarität sind zwei tragende Prinzipien der Entwicklungsphysiologie. Im Zuge der Untersuchung der Entwicklungspotenz des Rattenkeimes *in vitro* ergaben sich Befunde, die als Beitrag zur grundsätzlichen Gültigkeit des Prinzips der Rhythmik von Bedeutung erscheinen. Die Arbeit am Säugetierkeim hat den Vorteil, dass alle Anlagen unter streng gleichen Bedingungen und unter Einwirkung gleichartiger Umweltfaktoren zur Entwicklung kommen. Die Abweichungen der Keime eines Muttertieres bis zu 48 h Entwicklungszeit von der «Norm» (wobei die Norm den groben Durchschnitt, wie er etwa in Normentafeln festgelegt ist, darstellen soll) sind bekannt (NICHOLAS<sup>1</sup>). Überraschend ist die Sachlage jedoch bei der Untersuchung von Stadien der Frühentwicklung bei der Ratte.

Die konventionelle Bestimmung gibt für den Rattenkeim etwa folgende Verhältnisse: am 2. Tag finden sich 2-Blastomerenkeime, am 3. Tag 4-Blastomerenkeime, im Laufe des 4. Tages 8-16-Zeller, am 5. Tage beginnt die Blastocoelbildung, um am 7. Tag ins Eizylinderstadium überzugehen. Abweichungen von dieser Norm sind natürlich nicht überraschend. Die starken Abweichungen der Keime eines Tieres gegeneinander sind jedoch so auffallend, dass eine Erklärung dafür zu suchen ist.

Die Tabelle zeigt eine Zusammenstellung der Stadien, in welchen Rattenkeime bei der Isolierung vom 2. bis 6. Tag gefunden wurden.

Als 1. Tag der Entwicklung gilt derjenige, an welchem der Vaginalausstrich der Ratte morgens Sperma zeigt. Der Begattungszeitpunkt wird für 2 Uhr der vorhergehenden Nacht  $\pm$  6 h angenommen. Es ergibt sich, dass in dem Entwicklungszeitraum vom 2. bis 6. Tag eine erhebliche Verschiebung in der Rhythmik der Furchungsteilung eintritt. Die Unterschiede betragen etwa am 4. Tage innerhalb der Keime eines Tieres bis zu 5 Tagen der konventionellen Bestimmungsweise. Schon am 6. Tage sind die gewonnenen Stadien wieder einheitlich; alle am 7. Tag der Entwicklung untersuchten Keime ergeben übereinstimmend Eizylinderstadien völlig gleicher Differenzierungshöhe. Das bedeutet, dass alle Keime zwischen dem 2. und 7. Tag die gleiche Anzahl von Furchungsteilungen zurücklegen, dass jedoch die zeitliche Aufeinanderfolge dieser Teilungsschritte sehr unterschiedlich sein kann.

Es sei erwähnt, dass der untersuchte Rattenstamm durch hohe Produktivität mit durchschnittlich 10 Jungen je Wurf ausgezeichnet ist. Es handelt sich um Wistarratten, die seit 5 Jahren im hiesigen Institut gezüchtet werden. Die Zahl der gewonnenen Keime liegt

Gewinnung durch	Tag der Entwicklung	Norm	Anzahl der aufgefundenen						Grösste Abweichung gegeneinander in Tagen	Zahl der untersuchten Muttertiere
			2-Zeller	4-Zeller	8-16-Zeller	Morulae	Blastocoelkeime	Eizylinder		
Präparation der Eileiter	2.	2-Zeller	8						1	5
			7	1						
			4							
			6							
			7	1						
	3.	4-Zeller	1	3	4				3	5
				5	4	1				
			9							
			7	2						
			2	3						
Präparation der Eileiter bzw. Uterusspülung	4.	8-16-Zeller			2	1	4		5	10
							4			
			1				4			
						1	8			
			2	1	1	1	2			
						1	5			
						1	4			
							8			
						5	2			
			1	2			2			
Uterusspülung	5.	Morula   Blastocoelstad.			2	3	3		3	5
					1	2	3			
						1	4			
					1	2	3			
						4	5			
	6.	Blastocoelstad.					7		0	5
							7			
							8			
							5			
							4			
Präparation bzw. Serienschnitt des Uterus	7.	Eizylinder						93	0	10

infolge der Präparationsschwierigkeiten unter dem Durchschnitt, so dass angenommen werden kann, dass alle Keime zur Entwicklung gelangt wären. Angaben über die Schwankungen früherer Stadien der Rattenkeime innerhalb eines Muttertieres finden sich selten.

<sup>1</sup> J. S. NICHOLAS, Anat. Rec. 53, 71 (1932).

Die Angaben von WALDO und WIMSATT<sup>2</sup> deuten für die Kontrollgruppe der von ihnen verwendeten Versuchstiere in die gleiche Richtung. Arbeiten von NICHOLAS und SEIDEL haben die hohe Regulationsfähigkeit von Blastomeren des Ratten- bzw. Kaninchenkeimes ergeben, andererseits zeigen die Ergebnisse von DALCQ und seiner Schule schon am befruchteten Ei Bezirke bestimmter Differenzierung.

Herrn Prof. Dr. H. LETTRÉ danke ich für die Förderung der Arbeit.

H. WRBA

*Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg, den 18. Dezember 1955.*

### Summary

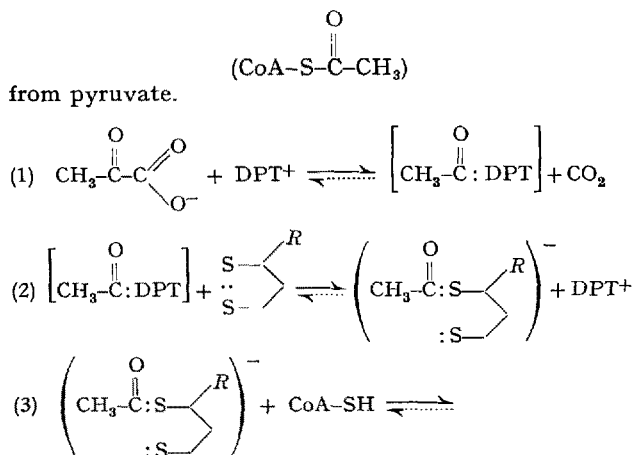
On the fourth day of development of the rat embryo all of the stages are found from the two-cell stage to the blastocoele stage even among embryos from the same litter. On the seventh day, they all show egg-cylinder stages without exception. The time interval between cleavages from the second to the sixth day of development is not constant and, in fact, varies over a wide range, even among embryos from the same litter.

<sup>2</sup> C. M. WALDO und W. A. WIMSATT, *Anat. Rec.* 93, 363 (1945).

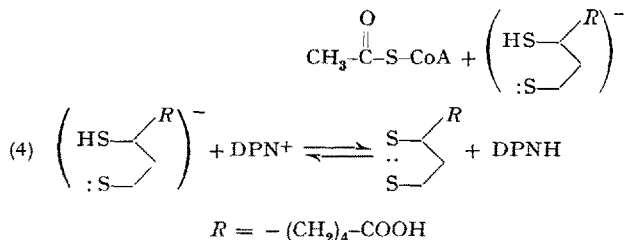
## DISPUTANDUM

### The Mechanism of Reactions Catalyzed by Thiamine Pyrophosphate

The present article constitutes an attempt to rationalize, from the point of view of organic chemistry, the manifold enzymatic reactions catalyzed by the agency of thiamine pyrophosphate (DPT<sup>+</sup>). The biochemical elucidation of DPT<sup>+</sup> catalyzed oxidative decarboxylation of pyruvate was summarized by GUNSALUS<sup>1</sup> who proposed a scheme shown in the equations (1)–(4) for the generation of acetyl Coenzyme A



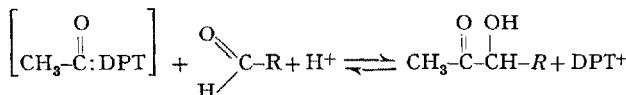
<sup>1</sup> I. C. GUNSALUS, *Mechanism of Enzyme Action* (John Hopkins Press, Baltimore 1954).



According to this scheme, reaction 1 is visualized as a heterolytic cleavage to yield CO<sub>2</sub> and a substance which is regarded by GUNSALUS (probably only formally) as a

carbanion  $\left( \text{CH}_3\text{-C(=O)-} \right)^-$  coordinated with DPT<sup>+</sup>. This compound then reacts in the second step with lipoic acid to regenerate DPT<sup>+</sup> and to give the acetylated reduced form of lipoic acid. Acetate is then transferred to CoA-SH and lipoic acid regenerated by oxidation with DPN<sup>+</sup>.

The intermediate complex of DPT<sup>+</sup> and  $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}^-$  is also capable of undergoing various other transformations among which the reaction with carbonyl compounds deserves attention:



In this manner for instance acetoin may be formed and it has been emphasized by GUNSALUS that this reaction does not require lipoic acid.

We shall now assume that the above scheme is correct and discuss the mechanistic possibilities by which the postulated reactions could be rationalized as well as the nature of the "complex" reactive form of acetaldehyde.

Inspection of reaction (1) reveals that pyruvate does not possess the proper setup for undergoing cleavage into

CO<sub>2</sub> and  $\text{CH}_3\text{-C(=O)-}^-$ . Consequently, the function of DPT<sup>+</sup> must be such as to set the stage for an easy reaction in the manner desired. This cleavage is then catalyzed by the intervention of the respective specific protein.

The formula sequence I–VI shows the way in which this might be accomplished. DPT<sup>+</sup> may combine with pyruvic acid to give a Schiff base represented by the partial structure I. In compound I, the two hydrogens attached to the carbon, flanked on one side by the pyrimidine nucleus and on the other by the quaternary nitrogen, are highly activated and one of them may consequently be removed by base. The resulting *ylid* may then undergo an electron shift and a proton may attach itself to the former carbonyl carbon of the pyruvic acid moiety. If this is a concerted process, it may be visualized as represented by the arrows in formula I. An intramolecular process as shown in formula Ia could conceivably be considered as an alternative. The resulting compound II now meets requirements for an easy cleavage of the desired C–C bond in the manner indicated.

The product of this reaction (III) or rather the *ylid* derived from it by abstraction of one of the activated protons (IV) may now be identified with the complex

