

Rolle das ATP im Aktin *in vitro* und *in vivo* eigentlich spielt.

Zum Studium dieses Problems versuchten wir ein Aktin zu gewinnen, in dem das ATP während der Polymerisation nicht gespalten wird. Als Untersuchungsmaterial verwendeten wir Aktin, nach STRAUB⁴ zubereitet und nach GUBA modifiziert, sowie Kartoffel-Apyrase (nach SZÉKÉLY⁵). Die Untersuchungen mit ionenaustauschendem Harz wurden nach der Methode von HURLBERT *et al.*⁶, die ATP-Messungen (viskosimetrisch) nach KRAMER *et al.*⁷ ausgeführt. Zur Kontrolle der ATP-Bestimmung wurde nach der Methode CRANE und LIPMANN⁸ vorgegangen.

Um zu entscheiden, ob die ATP-Spaltung ein enzymatischer Prozess ist oder nicht, versuchten wir, diese Spaltung mit einem Hemmungsmittel während der Polymerisation beim gewöhnlichen Aktin zu verhindern.

Tabelle I

Viskositätsänderung in spezifischer Viskosität			Trockengewicht mg/ml
Aktin-Art	Glob.	Fibr.	
Gewöhnliches Aktin	0,12	1,0	3,0
Soxh.-Aktin	0,15	0,92	2,6

Tabelle II

Aktomyosin Komplex-Bildung	%
Gewöhnliches Aktin	119
Soxh.-Aktin	118

(Mittelwerte von vier Experimenten)

Wir polymerisierten das Aktin mit einer Salzlösung (1 m NaF 0,01 m MgCl₂). Nach Ausfällung des Eiweisses chromatographierten wir die filtrierte Lösung mit Dovex 2 nach der Methode HURLBERT. Es wurde kein ATP-Maximum beobachtet, was bedeutet, dass NaF unter diesen Umständen auf die Spaltung keinen Einfluss ausübte.

STRAUB und ULLMAN konnten 1953 durch Entfetten mit siedendem Azeton im Soxhlet-Apparat ein Aktin erzeugen, in dem das ATP während der Polymerisation nicht regelmässig gespalten wurde. Später gelang es uns jedoch, durch Modifizierung der Darstellungsmethode (Entfettung 1 h, 10 Reflux) nicht oder nur in geringem Mass spaltendes Aktin reproduzierbar herzustellen. Diese geringe Spaltung entsprach in keiner Weise dem Mol-ATP/Mol-Eiweissverhältnis (MOMMAERTS⁹). Dieses Aktin polymerisierte und vermochte Myosin zu binden (siehe Tabellen I und II). (Wir nennen dieses soxhletisierte Aktin weiter S-Aktin.)

Von 60 Aktin-Präparaten konnten wir in 10% eine Spaltung (die wohl dem Mol-ATP/Mol-Eiweissverhältnis entsprach) beobachten. In 50% geschah keine Spaltung, in 40% war die Spaltung bedeutend geringer als das Mol-ATP/Mol-Eiweissverhältnis.

⁴ F. B. STRAUB, *Studies on Muscle*, vol. 1 und 2 (1942).
⁵ M. SZÉKÉLY, *Acta physiol. Hung.* 1, 325 (1950).
⁶ R. B. HURLBERT, H. SCHMITZ, A. F. BRUMM und V. R. POTTER, *J. biol. Chem.* 209, 23 (1954).
⁷ M. KRAMER, E. PETKÓ und F. B. STRAUB, *Kisérlet. Orv. Tud.* 1, 114 (1949).
⁸ R. K. CRANE und F. LIPMANN, *J. biol. Chem.* 201, 235 (1953).
⁹ W. F. H. M. MOMMAERTS, *Phosphorus Metabolism*, vol. 1 (The Johns Hopkins Press, Baltimore 1951), p. 551.

Weiter wurde von uns die ATP-Eiweissbindung im Verlauf der Extraktion untersucht. Zu diesem Zwecke wählten wir eine Apyrase-Konzentration, die den gebundenen ATP-Gehalt einer gewöhnlichen G-Aktinlösung während 30 min bei Zimmertemperatur nicht spalten konnte, wohl aber das freie ATP. Anschliessend wurde das Aktin statt mit destilliertem Wasser mit einer solchen Apyrase-Lösung während 20 min bei Zimmertemperatur aus trockenem Muskelpulver extrahiert. Die Resultate zeigen, dass im Mittelwert mindestens 70% des ATP-Gehaltes vom Extraktionsbeginn an nicht spaltbar an Eiweiss gebunden sind, oder dann maskiert.

Nun untersuchten wir, wie stark das ATP im S-Aktin gebunden ist im Vergleich zu gewöhnlichem Aktin. Mit Apyrase-Lösung verschiedener Konzentration inkubierten wir das gewöhnliche und das S-Aktin während 30 min bei Zimmertemperatur und bestimmten das ATP viskosimetrisch. Hierbei konnte festgestellt werden, dass das ATP im gewöhnlichen G-Aktin stärker gebunden ist als im globulären S-Aktin und im letzteren stärker als im polymerisierten (fibrillären) S-Aktin. Im fibrillären S-Aktin kam es öfters vor, dass das ATP ganz frei war.

Nach Angaben der Literatur ist das ATP und/oder ADP im Aktin vielleicht am Adeninkern, sogar an dem endständigen Phosphat gebunden (FEUER³, HASSELBACH¹⁰). Im S-Aktin ist diese Struktur von vornherein so verändert, dass die Bindungen frei oder geschwächt sind; hierbei spielen vielleicht die Fette und Lipide eine Rolle.

Die oben beschriebenen Experimente machen es wahrscheinlich, dass Polymerisation und ATP-Spaltung im Aktin zwar parallel verlaufen, aber doch voneinander unabhängig sind.

D. PRÁGAY*

Medizinisch-Chemisches Institut der Medizinischen Universität Budapest, 16. April 1958.

Summary

The suggestion is put forward that the polymerisation and ATP-splitting in actin are independent processes and that perhaps fats and lipoids are concerned in ATP-actin binding. (A comparison is made between the strength of ATP-binding of different actins.)

¹⁰ W. HASSELBACH, *Biochim. biophys. Acta* 25, 562 (1957).
* Gegenwärtige Adresse: Utrecht, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität.

Sintesi e attività biologica
del 5-ammino-triptofano

L'interesse per lo studio dei derivati del triptofano si è fatto molto vivo in questi ultimi anni a causa sia dell'importanza del metabolismo di questo amminoacido, sia dell'effetto della serotonina e dei derivati indolici in generale sul sistema nervoso centrale. Ciò è stato causa della sintesi di parecchi derivati del triptofano recanti i più svariati sostituenti al nucleo benzenico.

In questi ultimi tempi abbiamo sintetizzato nei nostri Laboratori il 5-nitro-triptofano¹; per idrogenazione ca-

¹ G. CAVALLINI e F. RAVENNA, *Il Farmaco (Ed. Sci.)* 13, 105 (1958).

talitica di questo ho ora preparato il 5-ammino-triptofano che è, per quanto a mia conoscenza, il primo derivato del triptofano recante un gruppo amminico al nucleo benzenico. Questo prodotto presenta un certo interesse dal punto di vista teorico se si tiene conto del fatto che il 5-ossi-triptofano conserva ancora, sia pure in debole misura, l'attività vasocostritttrice della serotonina². Poichè le attività vasocostrittrici della 5-ammino- e della 5-nitro-triptamina sono rispettivamente uguali a circa $\frac{1}{3}$ e $\frac{1}{25}$ di quelle della serotonina³ mi è sembrato interessante studiare l'eventuale parallelismo fra l'attività biologica di un triptofano e della ammina corrispondente.

Le prove biologiche preliminari eseguite nei nostri Laboratori da MILLA e GRUMELLI, non hanno però dimostrato tanto per il 5-nitro- che per il 5-ammino-triptofano, fino ad una concentrazione di 100 γ /ml di liquido del bagno (Tyrode), alcun effetto contrattile sull'utero di ratto in estro; queste sostanze non hanno neppure esercitato, nelle medesime concentrazioni, alcun effetto inibitore della contrazione massimale dell'utero provocata da 0,1 γ /ml di serotonina (contrazione invece totalmente inibita da 0,1 γ /ml di Dibenamina).

Il dicloridrato del 5-ammino-triptofano è stato preparato nel modo seguente: 1 g di cloridrato di 5-nitro-triptofano¹ viene sciolto in 150 cm³ di etanolo al 90% e idrogenato a pressione ordinaria in presenza di 150 mg di biossido di platino secondo ADAMS. Il consumo di idrogeno corrisponde al teorico. Dopo filtrazione del catalizzatore e evaporazione del solvente sotto pressione ridotta in corrente di azoto, si sospende il residuo (0,9 g) a freddo in 3 cm³ di etanolo anidro saturo di HCl. Si filtra il dicloridrato così ottenuto e lo si lava 2-3 volte con delle piccole quantità di alcool isopropilico anidro. Il residuo così ottenuto (0,7 g) viene sospeso in 60 cm³ di alcool isopropilico e sciolto all'ebollizione aggiungendo il quantitativo minimo di acqua. Dopo filtrazione con carbone animale si raffredda e si aggiunge etere anidro fino a inizio di intorbidamento. Dopo alcuni giorni in ghiacciaia si filtrano i piccoli prismi incolori così ottenuti e li si lava con etere.

Resa 0,3 g. P.F. 278°C con dec. Trov.: % C 45,30; % H 5,29; % N 14,10 (per C₁₁H₁₃N₃O₂ · 2HCl calc.: % C 45,21; % H 5,17; % N 14,38).

R_f: 0,17 (acqua, *n*-butanolo, acido acetico 50:40:10). Macchia violacea con la ninidrina e aranciata con la dimetilaminobenzaldeide.

Assorbimento nell'U.V. max. 2245 (log ϵ 4,49)
2825 (log ϵ 2,66)
min. 2480 (log ϵ 3,03).

F. RAVENNA

Laboratori Ricerche Maggioni e C., Milano, 12 maggio 1958.

Summary

5-amino-tryptophan has been prepared by catalytic hydrogenation of 5-nitro-tryptophan.

These two products have been shown to be devoid of both serotonin-like and serotonin-inhibiting activity on uterus of rats in oestrus.

² A. EK e B. WITKOP, J. Amer. chem. Soc. 75, 500 (1953).

³ D. W. WOOLLEY e E. SHAW, J. biol. Chem. 203, 69 (1953).

Über Fritillariacyanin, ein neues Anthocyanin aus den Blüten der japanischen Schachblume

Die Blütenfarbstoffe der japanischen Schachblume, *Fritillaria camschatcensis* Ker-Gawl, wurden von K. HAYASHI *et al.*¹ papierchromatographisch untersucht; sie fanden zwei Anthocyanine, nämlich Keracyanin (?) und Chrysanthemin.

Im Winter 1955 gelang es mir, den Blütenfarbstoff dieser Pflanze kristallisiert zu gewinnen. Das zweimal umkristallisierte luftgetrocknete Präparat zersetzte sich bei 182°C (unkorr.) unter Gasentwicklung und ergab die Formel C₂₆H₂₉O₁₄Cl · 3 H₂O. Im Hydrolysat wurde keine esterartig gebundene organische Säure, sondern nur drei Spaltstücke, das Aglykon und zwei Zucker, gefunden; das Aglykon war mit Cyanidinchlorid identisch; die Zucker erwiesen sich nach Farben-Reaktionen und Papierchromatographie als Xylose und Rhamnose. Nach spektrophotometrischen Untersuchungen scheint Farbstoff als Cyanidin-3-biosid vorzuliegen; Reihenfolge und Bindungsart der beiden Monosen im Disaccharid des ursprünglichen Farbstoffs sind noch ungewiss.

Diesem neuen Anthocyanin möchte ich die Bezeichnung Fritillariacyanin geben.

Eine ausführliche Mitteilung wird an anderer Stelle erfolgen.

M. SHIBATA

Pflanzenphysiologisches Laboratorium, Biologisches Institut der Universität Toyama (Japan), 8. April 1958.

Summary

Fritillariacyanin, the colouring principle of the dark purple flower of *Fritillaria camschatcensis* Ker-Gawl, has been crystallized. It is a cyanidin xylorhamnoside.

¹ K. HAYASHI und Y. ABE, Bot. Mag. Tokyo 69, 227 (1956).

Le rôle de l'hétérosis dans la compétition entre *ebony* et son allèle normal

L'observation directe du comportement sexuel a montré que la mutation *ebony* est responsable, à l'état homozygote, d'une moindre activité des mâles. Nous émettons l'hypothèse, dans une note précédente¹, que l'avantage hétérotique auquel on attribue parfois le maintien du gène *ebony* dans les populations mixtes pourrait consister partiellement en une plus grande activité des hétérozygotes, ce que certaines observations semblaient suggérer. Voici quelques précisions à ce sujet.

Matériel et techniques. Nous utilisons les souches *ee(e)* et ++(*e*) à cytoplasme *ebony e*¹, *ee(+)* et ++(+)² à cytoplasme *sauvage* Canton spécial obtenues par une méthode que nous avons déjà décrite. Pour l'expérimentation, nous employons cette fois des cages circulaires, d'un diamètre intérieur de 10 cm environ (elles étaient fabriquées par F. SCHOLLAERT, technicien au Laboratoire de Technologie Forestière de l'Institut Agronomique). Les individus utilisés étaient âgés de 4 à 5 jours. Les mesures d'activité portaient sur 50 couples vierges. Pour les tests d'isolation sexuelle, il était nécessaire de distinguer les hétérozygotes, qui phénotypiquement ne diffèrent pas

¹ A. A. ELENS, Exper. 13, 293 (1957).