

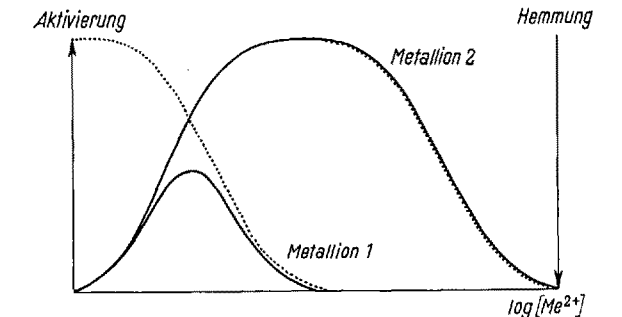
vierenden Metallions zeigt. Sie nimmt zunächst mit steigender Metallionen-Konzentration zu, um dann nach Durchlaufen eines Optimums mit weitersteigender $[Me^{2+}]$ wieder abzunehmen⁶. Die erzielbaren maximalen Aktivitäten sind zusammen mit den optimalen Konzentrationen in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Hexokinase-Aktivitäten (Konzentrationen der Reaktionspartner im Endvolumen von 2 ml: ATP⁶ 0,01 M, Fruktose 0,04 M, NaHCO₃ 0,02 M, Hexokinase¹ 20 γ /ml·pH = 7,5 nach Sättigung mit 5% CO₂/95% N₂, T = 25,0 °C).

Metallion	Optimale $[Me^{2+}]$ (Totalkonzentration)	Maximale Aktivität	
		mm ³ CO ₂ /min	% ⁷
Mg ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$ – $2,5 \cdot 10^{-2}$	8,8	100
Co ²⁺	10^{-2} – $1,25 \cdot 10^{-2}$	7,3	83
Ni ²⁺	10^{-2}	5,8	66
Mn ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$	5,2	59
Zn ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$ – 10^{-2}	4,8	55
Cd ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$	1,4	16
—	—	0,2	2

Die Tabelle zeigt, dass die mit Mg²⁺ erzielte Aktivität mit keinem anderen der untersuchten Metallionen erreicht wird, dass jedoch einige Metallionen vergleichbare Aktivitäten hervorzurufen vermögen.

Bei allen aktiven Metallionen zeigte sich, wie schon erwähnt, ein gleichartiger, glockenförmiger Verlauf der Aktivität als Funktion von $\log [Me^{2+}]$. Dieser Verlauf lässt sich verstehen aus einer Überlagerung einer aktivierenden und einer – bei höherer $[Me^{2+}]$ einsetzenden – hemmenden Wirkung des Metallions (siehe schematische Abbildung).



Zu beobachtende Aktivitäten (—) für zwei verschiedene Me²⁺ verschiedener Hemmwirkung (·····) und gleicher Aktivierung⁸

Die unterschiedlichen Aktivitätsmaxima erklären sich alsdann dadurch, dass die Hemmung des Ferments bei den verschiedenen Metallionen bei verschiedener Konzentration einsetzt.

Die Mechanismen von Aktivierung und Hemmung sind im einzelnen noch nicht geklärt. Es wird jedoch allgemein angenommen^{4,9}, dass die Aktivierung des Ferments von

der Ausbildung von Komplexen der Art I oder II abhängt.



Für die Hemmung besteht bei der Annahme einer Zwischenstufe I die Möglichkeit, dass mit der Erhöhung der $[Me^{2+}]$ die Ausbildung von I zugunsten der Partikeln Me²⁺-Enzym und Me²⁺-ATP nach der Gleichung



zurückgedrängt wird. Bei Fall II ist denkbar, dass Me²⁺ mit einer funktionellen Gruppe des Enzyms reagiert, die andererseits – zum Beispiel über H-Brücken – als Haftstelle für das Substrat in Betracht kommt; dadurch würde die Ausbildung von II behindert.

Nach den Versuchsergebnissen lässt sich nun die Sonderstellung des Magnesiums dadurch erklären, dass hier die Aktivierung erst bei sehr hoher $[Me^{2+}]$ durch eine Hemmung überlagert wird. Es bedeutet dies, dass der für die Reaktion entscheidende Komplex I oder II für Mg²⁺ über einen wesentlich weiteren Konzentrationsbereich existiert als für die anderen Metallionen (siehe Abbildung, in der die Kurve für Metallion 2 dem Verhalten des Mg²⁺ entsprechen würde).

Die aus der Tabelle abzulesende Folge der Me²⁺ zeigt keine Beziehung zu einer Ordnung der Ionen nach steigender Komplexstabilität, wie sie zuerst von PFEIFFER¹⁰ angegeben worden ist.

Für die Spezifität, die in der Tabelle zum Ausdruck kommt, ist demnach nicht das unterschiedliche Komplexbildungsvermögen der verschiedenen Metallionen verantwortlich, sondern es ist zu vermuten, dass hierfür das Verhältnis zwischen der Stabilität des Substrat- zu dem des Enzym-Komplexes eines jeden Metallions von Bedeutung ist. Dieses Verhältnis kann innerhalb der erwähnten Pfeifferschen Ordnung der Metallionen stark variieren.

H. BRINTZINGER,
S. FALLAB und H. ERLÉNMEYER

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel,
19. Dezember 1958.

Summary

The activity of hexokinase has been determined in the presence of different metal ions. Besides Mg²⁺, the ions Co²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, and Cd²⁺ show remarkable activation. The differences are explained by superposition of an activating and an inhibiting function. The specificity problem is discussed.

¹⁰ P. PFEIFFER, H. THIELERT und H. GLASER, J. prakt. Chem. 152, 145 (1939). – Siehe auch H. IRVING und R. J. P. WILLIAMS, J. Brit. chem. Soc. 1953, 3192.

Die Wirkung von Herzglykosiden und Kalzium auf den Kaliumtransport im Herzmuskel

Von SZENT-GYÖRGYI¹ und HAJDU^{2,3} wurde gezeigt, dass beim Froschherzen das Phänomen der Bowditchschen Treppe sowohl durch kaliumfreie Ringerlösung als auch

⁶ Über ähnliche Befunde bei andern Enzymen berichten: N. VAN THOAI, J. ROCHE und M. ROGER, Biochem. biophys. Acta 1, 61 (1947). – J. F. SPECK, J. biol. Chem. 178, 315 (1948). – L. H. STICKLAND, Biochem. J. 44, 190 (1949). – C. S. VAIDYANATHAN und K. V. GIRI, Enzymol. 16, 167 (1953). – B. G. MALMSTRÖM, Arch. biochem. biophys. 58, 381, 398 (1955).
⁸ Na₂ATP SIGMA Chem. Co.
⁷ Mg²⁺-Aktivität = 100% gesetzt.
⁹ Eine ausführliche Diskussion erfolgt an anderer Stelle.
¹ H. G. HERS, Biochem. biophys. Acta 8, 424 (1952). – C. LIÉ-BECQ, Biochem. J. 54, p. xxii (1953). – N. C. MELCHIOR und J. B. MELCHIOR, J. biol. Chem. 231, 609 (1958).

¹ A. SZENT-GYÖRGYI, Chemical Physiology of Contraction in Body and Heart Muscle (New York 1953).
² S. HAJDU und A. SZENT-GYÖRGYI, Amer. J. Physiol. 168, 159, 171 (1952).
³ S. HAJDU, Amer. J. Physiol. 174, 371 (1953).

durch Herzglykoside unterdrückt werden kann. Die Wirkung des Glykosids wurde gedeutet als eine Hemmung des aktiven Kaliumtransportes in der Erholungsphase des Kontraktionszyklus, wodurch eine Anhäufung von intrazellulärem Kalium verhindert und damit die für das Actomyosin optimale Kaliumkonzentration nicht überschritten wird. Andererseits wiesen MOULIN und WILBRANDT⁴ nach, dass ebenso wie Kaliummangel auch Kalziumüberschuss das Treppenphänomen unterdrückt, wobei Veränderungen der Kalziumkonzentration wesentlich stärker wirken als vergleichbare Veränderungen der Kaliumkonzentration.

Die von SZENT-GYÖRGYI⁵ vorgeschlagene Deutung der Moulinschen Beobachtung, dass nämlich Kalziumionen eine ähnliche Wirkung ausüben könnten wie Herzglykoside, ist bei der bekannten Ähnlichkeit der Wirkungen von Herzglykosid und Kalziumionen zunächst denkbar, bedarf aber der experimentellen Prüfung.

Die hier mitgeteilten Untersuchungen dienen dieser Prüfung.

Methodik. Die Versuche wurden an isolierten, nach Langendorff perfundierten Meerschweinchenherzen durchgeführt. Der Widerstandsdruck der Koronarien

betrug bei der von uns verwendeten Methodik^{6,7} zwischen 30 und 20 mm Hg. Als Perfusionsflüssigkeit diente eine mit Sauerstoff gesättigte Tyrodelösung mit $\frac{1}{40}$ Volumen Pferdeserum. Die Zufuhr der zu prüfenden Substanzen und die Berechnung ihrer Endkonzentration im Herzen erfolgten nach der früher beschriebenen Methode⁷. In bestimmten zeitlichen Intervallen wurde die durch das Herz geflossene Perfusionsflüssigkeit gesammelt und deren Kaliumgehalt flammenphotometrisch bestimmt (Zeiss-Spektralphotometer mit Flammenzusatz). Die Berechnung der Kaliumabgabe bzw. Kaliumaufnahme des Muskels (Netto-Kaliumflux nach VICK und KAHN⁸) in $\mu\text{Eq}/\text{min}$ erfolgte durch Multiplikation der Differenz zwischen den Kaliumkonzentrationen der einfließenden und der ausfließenden Tyrodelösung (in $\mu\text{Eq}/\text{ml}$) mit dem Perfusionsvolumen V (in ml/min).

Resultate. Sowohl das verwendete Herzglykosid (K-Strophanthosid) als auch erhöhte Kalziumkonzentration entfalteten die bekannte positiv inotrope Wirkung. Gemessen an der Amplitudenzunahme des Mechanogramms betrug sie bis zu 100%. Bei Steigerung der Konzentration bewirkten beide eine Kontraktur, die sich unter Herzglykosid langsam, unter Kalzium sehr rasch entwickelte.

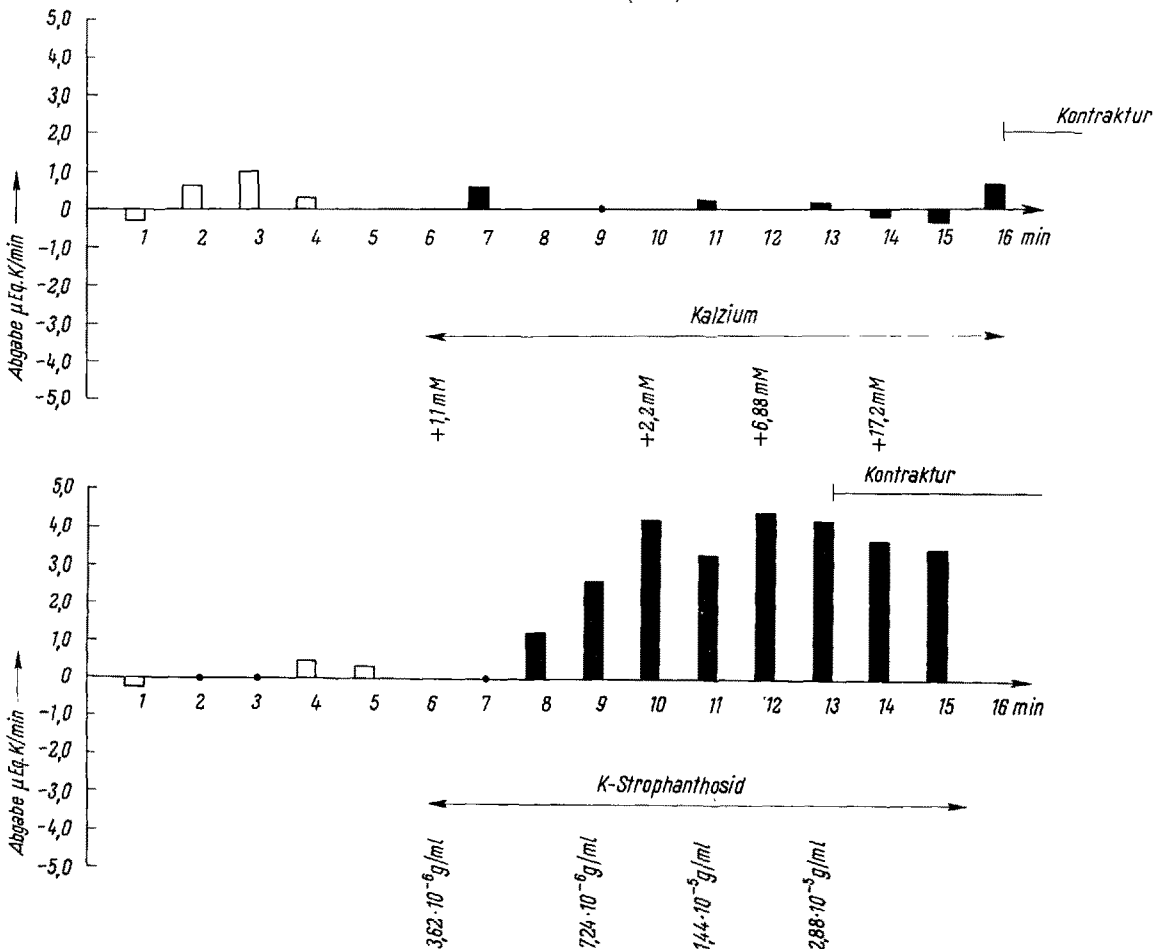
⁶ H. RYSER und W. WILBRANDT, Arch. int. Pharmacodyn. 96, 131 (1953).

⁷ W. HEIMANN und W. WILBRANDT, Helv. physiol. Acta 12, 230 (1954).

⁸ R. L. VICK und J. B. KAHN, J. Pharmacol. exp. Therap. 121, 389 (1957).

⁴ M. MOULIN und W. WILBRANDT, Exper. 11, 72 (1955).

⁵ A. SZENT-GYÖRGYI, General Views on the Chemistry of Muscle Contraction. Adv. Cardiol. Bd. 1 (Karger, Basel und New York 1956), p. 6–51.



Vergleich der Wirkung von *k*-Strophanthosid (unten) und Kalzium (oben) in steigenden Konzentrationen auf die Kaliumabgabe des nach LANGENDORFF perfundierten Meerschweinchenherzens.

Ordinate: $\mu\text{Eq K}/\text{min}$. Negative Werte bedeuten Kaliumaufnahme des Muskels (Abnahme in der Perfusionslösung). Abszisse: Zeit in min

In bezug auf die Kaliumabgabe verhielten sich dagegen Glykosid und Kalzium ganz verschieden. Die Abbildung zeigt einen typischen Versuch. Glykosid bewirkt hier eine bei $3,6 \times 10^{-6}$ g/ml beginnende, mit der Konzentration ansteigende und bei $7,2 \times 10^{-6}$ g/ml ein Maximum erreichende Steigerung der Netto-Kaliumabgabe. Die Grenzkonzentration für maximale Wirkung auf den Kaliumverlust liegt tiefer als diejenige für die Kontraktur. Kalzium dagegen bewirkt selbst in kontrakturerzeugenden Konzentrationen keine gleichsinnige Veränderung.

Die Annahme einer digitalisähnlichen Wirkung von Kalziumionen auf den Kaliumtransport am Herzmuskel hat sich demnach nicht bestätigen lassen, was mit Befunden an Erythrozyten⁹, am ruhenden Skelettmuskel¹⁰ und an Streifenpräparaten rechter Ventrikel junger Ratten¹¹ übereinstimmt.

Auf Grund dieses negativen Befundes gewinnt die von WILBRANDT¹² vorgeschlagene Deutung, dass nicht die Erniedrigung der Innenkonzentration an Kalium, sondern die Erhöhung der Kalzium-Innenkonzentration für die muskuläre Glykosidwirkung entscheidend ist, an Wahrscheinlichkeit. Sie stützte sich neben den bekannten Parallelen zwischen Kalziumwirkungen und Digitaliswirkungen vor allem auf die sehr ausgesprochene Wirkung niedriger Kalziumkonzentrationen auf Aktomyosin¹³.

Die Glykosidwirkung auf die Netto-Abgabe des Kaliums ist in erster Linie als Hemmung des aktiven Kaliumtransports in die Herzmuskelfaser hinein aufzufassen^{14,9}. Ein Zusammenhang zwischen dieser Wirkung und der postulierten Erhöhung der Kalzium-Innenkonzentration wäre zum Beispiel dann denkbar, wenn auch am Herzmuskel eine Koppelung zwischen aktivem Natrium- und Kaliumtransport in der Erholungsphase des Erregungszyklus besteht (was wahrscheinlich erscheint) und wenn Natrium und Kalzium um den Auswärtstransport konkurrieren, was nach experimentellen Befunden, die auf kompetitive Beziehungen zwischen Natrium und Kalzium am Herzmuskel hinweisen^{15,16}, möglich scheint.

Das Herzglykosid würde dann primär den aktiven Kalium-Natriumtransport hemmen, würde so zu intrazellulärer Natriumanhäufung führen und dadurch sekundär kompetitiv den Kalziumaustritt verlangsamen.

F. SULSER*

Pharmakologisches Institut der Universität Bern, 31. Oktober 1958.

Summary

In isolated perfused guinea pig hearts, both strophanthin and calcium produced positive inotropic effects and contracture increasing with the concentration of the drugs. Strophanthin caused a net loss of potassium from the heart to the perfusing fluid whereas calcium did not interfere in the same way with potassium exchange. The data are consistent with the view that the positive inotropic effect of cardiac glycosides depends mainly on the increased intracellular calcium concentration, perhaps due to inhibition of the active potassium and sodium transport.

⁹ P. LUNDGAARD-HANSEN, Arch. exp. Path. Pharmacol. 231, 577 (1957).

¹⁰ P. N. WITT, J. Pharmacol. exp. Therap. 119, 195 (1957).

¹¹ M. REITER, Abstr. XX. Internat. Physiol. Kongress, Brüssel 1956.

¹² W. WILBRANDT, Wien. med. Wschr. 108, 809 (1958).

¹³ E. BOZLER, Amer. J. Physiol. 167, 276 (1951).

¹⁴ B. RAYNER und M. WEATHERALL, Brit. J. Pharmacol. 12, 371 (1957).

¹⁵ R. NIEDERGERKE und H. LÜTTGAU, Nature 179, 1066 (1957).

¹⁶ W. WILBRANDT und H. KOLLER, Helv. physiol. Acta 6, 208 (1948).

* Z. Zt. National Heart Institute, Laboratory of Chemical Pharmacology, Bethesda (Maryland).

The Coexistence of Haploidy and Diploidy in Yeasts

Haploid and diploid cells of the same strain^{1,2} have been reported as coexisting in cultures of different species of yeasts. An example is *Saccharomyces cerevisiae* ('*Zygosaccharomyces priorianus*')³. Oscillations between diploidy and haploidy occur in *S. marxianus*⁴, *S. rouxii*⁵, a strain of *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* ('*S. paradoxus*')⁶, and *Hansenula wingei*⁶. So a normal vegetative population of yeasts in nature and in culture may be a mixture of haploid and diploid cells⁷⁻⁹.

Haploid vegetative cells are formed from ascospores and their descendants, when there is no fusion between cells. Diploid cells are produced by the conjugation of two haploid cells.

WICKERHAM^{10,11} has argued that haploidy is primitive in yeasts and of major importance taxonomically, the ratio of haploid to diploid cells being indicative of the 'level of evolutionary development'. Thus he considered that diploid yeasts have evolved from primitive haploid ones.

Now yeasts are commonly found in rapidly changing habitats, where they multiply fast¹²⁻¹⁴. Thus a possible alternative to WICKERHAM's idea is that the simultaneous existence of haploid and diploid cells could be of particular advantage to such yeasts. With diploid cells, mutant recessive genes can spread, masked by the wild-type in the heterozygote. In this way diploidy may provide a stable phenotype along with the possibility of genetic variation¹⁵. Another advantage of diploidy is that it gives an opportunity for heterosis¹⁶: the condition where heterozygotes are fitter than the corresponding homozygotes. On the other hand, haploid cells would make possible the rapid appearance of mutant characters¹⁷ which are masked in diploids: a mutant gene, only of potential advantage in heterozygous diploids, would spread immediately if it were present in haploid cells. This interpretation of the role of haploidy may be compared with the suggestion by

¹ The term 'strain' is used rigorously, as by R. E. BUCHANAN, R. ST. JOHN-BROOKS, and R. S. BREED, J. gen. Microbiol. 3, 444 (1949).

² The names of yeasts mentioned accord with J. LODDER and N. J. W. KREGER-VAN RIJ, *The Yeasts, a Taxonomic Study* (North Holland Publishing Company, Amsterdam 1952).

³ Ö. WINGE and O. LAUSTSEN, C. R. Lab. Carlsberg [Sér. Physiol.] 22, 337 (1939).

⁴ J. LODDER, Leewenhoek ned. Tijdschr. 12, 273 (1947).

⁵ A. HJORT, C. R. Lab. Carlsberg [Sér. Physiol.] 26, 161 (1956).

⁶ L. J. WICKERHAM, C. R. Lab. Carlsberg [Sér. Physiol.] 26, 423 (1956).

⁷ H. J. PHAFF and E. M. MRAK, Wallerstein Labs. Commun. 11, 261 (1948).

⁸ Ö. WINGE and C. ROBERTS, *Life History and Cytology of Yeasts in The Chemistry and Biology of Yeasts* (ed. by A. H. COOK, Academic Press, New York 1958).

⁹ H. A. КРАСИЛЬНИКОВ, Микробиология 4, 121 (1935).

¹⁰ L. J. WICKERHAM, Tech. Bull. U. S. Dep. Agric. No. 1029 (1951).

¹¹ L. J. WICKERHAM and K. A. BURTON, J. Bact. 71, 290 (1956).

¹² A. LUND, *Ecology of Yeasts in The Chemistry and Biology of Yeasts* (ed. by A. H. COOK, Academic Press, New York 1958).

¹³ M. INGRAM, *Yeasts in Food Spoilage in The Chemistry and Biology of Yeasts* (ed. by A. H. COOK, Academic Press, New York 1958).

¹⁴ E. M. MRAK, Food Tech., Champaign 11, 541 (1957).

¹⁵ I. M. LERNER, *Genetic Homeostasis* (Oliver and Boyd, Edinburgh 1954).

¹⁶ J. B. S. HALDANE, Proc. R. Soc. [B] 144, 217 (1955).

¹⁷ T. M. SONNEBORN, *Breeding Systems, Reproductive Methods, and Species Problems in Protozoa in The Species Problem* (ed. by E. MAYR, American Association for the Advancement of Science, Washington 1957), p. 202.