

bzw. Konfluenz der durch Sinnesreize ausgelösten Erregungen an. Um hierauf eine Antwort zu erhalten, muss man weitergefasste Zusammenhänge überblicken. Entsprechend nehmen wir auf ein Verhalten Bezug, welches schon in anderem Zusammenhang besprochen worden ist<sup>7</sup>. Dort war von der Beschaffung und vom Genuss einer wohlschmeckenden Frucht die Rede. Versucht man beim Zerkauen eines Bissens die vollumfängliche Geschmacksempfindung hinsichtlich ihren einzelnen Komponenten zu differenzieren, so gelingt dies nur in beschränktem Mass. Am ehesten wird die Süss-Komponente herausgeschmeckt, u. U. auch diejenige von sauer. Nicht auflösbar ist hingegen das eigentliche Aroma. Ohne gerichtete Aufmerksamkeit geht auch die Empfindung der Konsistenz in den ganzen Empfindungskomplex ein. Beim Genuss z. B. von Kaffee, Bier usw. liefert ausserdem die Temperatur des Geschmacksträgers einen Beitrag an das integrale gustatorische Erlebnis. Alles in allem hat man eine partiell nicht auflösbare Fusion verschiedenartiger Geschmacks- und anderer Sinnesqualitäten vor sich, welchen sich in vielen Fällen noch charakteristische

Düfte beimischen, die beim Verschlucken der Kau-masse durch den Nasenrachenraum aufsteigend vom olfaktorischen Sinnesepithel der Nasenschleimhaut rezipiert werden. – Besinnt man sich nach diesen Feststellungen der oben beschriebenen Befunde bei Ableitung zentraler Potentiale, so wird man dazu geführt, die Verschmelzung der verschiedenen Empfindungsqualitäten zu einem integralen Erlebnis auf die Konvergenz mit Konfluenz nervöser Erregungen zu beziehen und als ein interessantes Indizium betreffend die Korrelation zwischen neuronalen Vorgängen und subjektivem Geschehen aufzufassen.

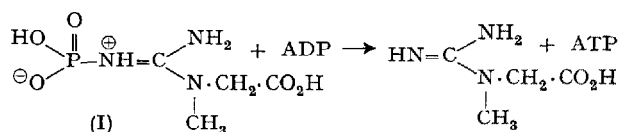
**Summary.** Attention is drawn to a topical problem of brain physiology in connection with the convergence of afferent nervous activity. Anatomical and electrophysiological evidence is related to the psychological experience, which is induced by peripheral sensory stimuli of different localization and quality. The conclusion is that conscious perception of external stimuli correlates with the integrated patterns of nervous activity thus induced.

## Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

### Die katalytische Wirkung von Metallionen auf die Stabilität von Phosphagenen

Die in der Natur vorkommenden Phosphorsäureguanidide (Phosphagene), Kreatinphosphorsäure (I) und Argininphosphorsäure, sind für ihre Funktion bei der *in-vivo*-Phosphorylierung von ADP zu ATP bekannt<sup>1</sup>.

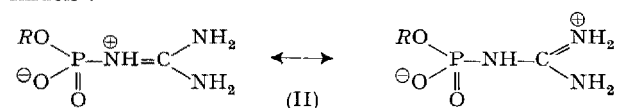


Es handelt sich um eine Transphosphorylierung, deren genauer Mechanismus jedoch noch aufzuklären ist.

Andere Verbindungen, die eine Phosphor-Stickstoff-Bindung enthalten, z. B. Phosphorsäureamide<sup>2</sup> und Phosphorsäureimidazole<sup>3</sup>, sind öfters *in vitro* als Phosphorylierungsmittel benutzt worden. Phosphorsäureguanidide zeigen eine grosse chemische Stabilität, wogegen sie in biochemischer Hinsicht instabil sind. Sie lassen sich viel langsamer hydrolysieren als Phosphorsäureamide<sup>4</sup> und können als Phosphorylierungsmittel unter den gewöhnlichen Bedingungen eines *in-vitro*-Experimentes<sup>2</sup> nicht verwendet werden.

In Reaktionen, die zur Phosphorylierung führen, ergibt sich die Spaltung der Phosphor-Stickstoff-Bindungen aus der Tatsache, dass das Stickstoffatom (gebunden an Phosphor) positiv geladen ist<sup>5</sup>. Im Falle von Phosphorsäureguanididen kann eine solche positive Ladung an

jedem der drei N-Atome auftreten (II), und folglich kann keine *in-vitro*-Phosphorylierung in saurer Lösung stattfinden<sup>6</sup>.



Die erfolgreiche Übertragung von Phosphat eines Phosphagens an ADP *in vivo* lässt das Vorhandensein einer bisher unerkannten Aktivierungsart eines in chemischer Hinsicht *in vitro* nicht reaktionsfähigen Moleküls vermuten. In jenen biologischen Systemen, in denen ein Phosphat von einem Phosphagen übertragen wird, sind gewisse Spezifitäten von Metallionen beobachtet worden<sup>1</sup>. Es scheint möglich, dass ein Metallion ( $\text{M}^{n\oplus}$ ) auf Grund seiner Komplexbildung (IIIa, b) eine Rolle spielt und

<sup>1</sup> J. F. MORRISON und A. H. ENNOR, *The Enzymes* (Ed. P. D. BOYER, H. LARDY und K. MYRBAECK, Academic Press, New York 1960), vol. 2, p. 89.

<sup>2</sup> V. M. CLARK, G. W. KIRBY und A. R. TODD, *J. chem. Soc.* 1957, 1497. – R. W. CHAMBERS und H. G. KHORANA, *J. Amer. chem. Soc.* 80, 3749, 3756 (1958).

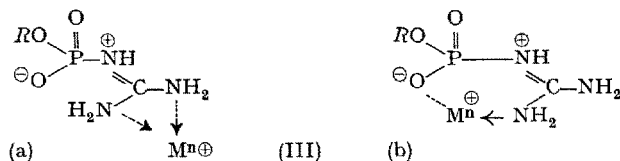
<sup>3</sup> J. BADDILEY, J. G. BUCHANAN und R. LETTERS, *J. chem. Soc.* 1956, 2812. – T. RATHLEV und T. ROSENBERG, *Arch. Biochem. Biophys.* 65, 319 (1956). – H. SCHALLER, H. A. STAAB und F. CRAMER, *Chem. Ber.* 94, 1621 (1961).

<sup>4</sup> T. WINNICK und E. M. SCOTT, *Arch. Biochem.* 12, 201 (1947).

<sup>5</sup> H. N. STOKES, *Amer. chem. J.* 15, 198 (1893).

<sup>6</sup> G. W. KIRBY, Ph. D. dissertation, Cambridge (1958).

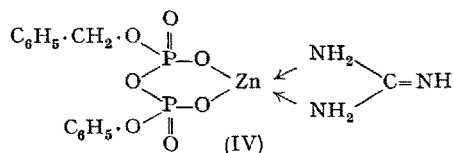
dass dabei die positive Ladung auf dem N-Atom der P–N-Bindung lokalisiert wird.



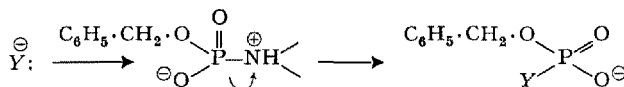
Wir möchten von Versuchen berichten, die eine solche Wirkung zeigen.

Monobenzyl-Phosphoroguanidid (II,  $R = \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ ) bildet Komplexe mit den folgenden Ionen:  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Zn}^{2+}$ , und wir haben die Komplexe mit  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  und  $\text{Zn}^{2+}$  isoliert. In Gegenwart von Wasser können die  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , und  $\text{Zn}^{2+}$  Komplexe hydrolysiert werden unter Bedingungen, in denen (II:  $R = \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ ) stabil ist. Trotzdem sind die angewandten Bedingungen noch verhältnismässig intensiv (nach 12 h bei  $80^\circ$  wird der Zinkkomplex zu 50% hydrolysiert, während unter denselben Bedingungen der Magnesiumkomplex mehrere Tage lang stabil bleibt: der Mangankomplex ist beträchtlich labiler als der Zinkkomplex).

Die Reaktion des Zinkkomplexes (III:  $R = \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{M} = \text{Zn}$ ) mit Monophenylphosphorsäure ergab P¹-Benzyl-P²-Phenyl-Pyrophosphat, das als (IV) isoliert wurde.



Sowohl diese Pyrophosphat-Bildung als auch die oben erwähnte Hydrolyse sind Beispiele eines nucleophilen Angriffes (z. B. von  $\text{Y}^{\ominus}$ ) auf das Phosphoratom des Komplexes (III:  $R = \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{M} = \text{Zn}$ ) mit gleichzeitigen Spaltung der P–N-Bindung.



Wir glauben, dass eine solche Metallionen-Katalyse für die *in-vivo*-Phosphorylierung von ADP durch Phosphagene verantwortlich sein könnte, obwohl man beachten muss, dass die *in-vivo*-Labilität von Phosphagenen viel grösser ist als jede, die man bisher in einem *in-vitro*-System beobachtet hat.

**Summary.** Phosphoroguanidates, a class of compounds which includes the enzymatically-active phosphagens, exhibit exceptional *in vitro* stability. This lack of reactivity implies an *in vivo* mode of activation, as yet undiscerned. A variety of metal ions catalyse the cleavage of the phosphorus-nitrogen bond with consequent phosphoryl-group transfer, but the enhancement of rate seems insufficient to account for the known activities of phospho-creatine and phospho-arginine. It is suggested that yet another mode of activation, chemical or biochemical, awaits discovery.

V. M. CLARK und S. G. WARREN

University Chemical Laboratory, Cambridge (England),  
May 24, 1963.

## The Course of Depolymerization of DNA by DNase I

In the preceding report<sup>1</sup> we observed that thymus DNA, having a molecular weight of some  $500 \times 10^4$ , prepared according to FEULGEN or GULLAND, was depolymerized by DNase I in the absence of  $\text{Mg}^{++}$  into a small DNA called b nucleic acid<sup>2</sup> having a single-stranded structure, the molecular weight of which was about  $5 \times 10^4$ . DNA prepared by the method of GULLAND<sup>3</sup> (Gulland's DNA) showed the properties of a double helical structure, whereas DNA prepared by the method of FEULGEN<sup>4</sup> (Feulgen's DNA) showed ones of a double random coil<sup>5</sup>.

Recently we have made an investigation of an intermediate through which a double helical DNA, for example Gulland's DNA, was degraded by DNase I into b nucleic acid, in order to decide what kind of molecular structures it has from amongst various possibilities, such as a, b, c and d shown in Figure 1; a showed a single-stranded DNA, b a double random coil, c a double helical strand constructed of two short polynucleotide chains and d a double helical strand cut short from some ends.

To 0.1% Gulland's DNA solution in water was added DNase I (final concentration  $5 \mu\text{g/ml}$ ) at  $35^\circ$  and the changes of viscosity and absorbancy at  $260 \text{ m}\mu$  of the reaction mixture were observed. As shown in Figure 2,  $\text{OD}_{250}^{\text{digest}}/\text{OD}_{250}^{\text{orig}}$  hardly increased until the reaction mixture showed a decrease of as much as 80% in relative viscosity, but  $\text{OD}_{700}^{\text{digest}}/\text{OD}_{250}^{\text{digest}}$  increased from the beginning in accordance with the drop in the viscosity (dotted line in Figure 2). Then an aliquot of the same reaction

mixture was taken at various intervals of incubation and injected into 5 vol of ethanol adjusted to pH 4.5 with 0.25N HCl, and the resultant precipitate was subjected to paper electrophoresis (200 V, 4 mA the current flow lasting 2h, the electrolyte solution used being  $M/50$  acetate buffer of pH 5.0). Before the relative viscosity of the reaction mixture dropped to 20% of the original value, the spot of the original DNA detectable by UV light diminished and disappeared rapidly, while a new spot, having as large migration rate as b nucleic acid, appeared and increased quickly (Figure 3). These facts might show that this b acid-like intermediate produced at the initial step of the reaction had yet a considerable hypochromicity at  $25^\circ$  in contrast with b nucleic acid, but even this hypochromicity disappeared easily at  $70^\circ$  in contrast with Gulland's DNA.

10 mg of Gulland's DNA were incubated with  $50 \mu\text{g}$  of DNase I at  $35^\circ$  under almost the same conditions as mentioned above, and when the relative viscosity of the reaction mixture dropped to 20% of original value, the reaction mixture was injected into 5 vol of ethanol adjusted

<sup>1</sup> M. MATSUDA, K. MAKINO, N. YAMAZAKI, and M. TSUJI, *Exper.* **19**, 192 (1963).

<sup>2</sup> R. FEULGEN, *Z. physiol. Chem.* **237**, 261 (1935).

<sup>3</sup> J. M. GULLAND, D. O. JORDAN, and C. J. THRELFALL, *J. chem. Soc.* **1947**, 1129.

<sup>4</sup> R. FEULGEN, *Z. physiol. Chem.* **90**, 261 (1914).

<sup>5</sup> M. MATSUDA and K. MAKINO, unpublished data.

<sup>6</sup> See the legend under Figure 2 and Figure 5.