

stufenweise. Der Chloroplast erscheint am Ende als ein kleiner, unregelmässig geformter Körper. Manchmal bildet sich in seinem Innern ein kompakter Kristall, welcher im Elektronenmikroskop abwechselnd helle und dunkle Streifen aufzuweisen scheint. Zuweilen können Virusteilchen im Kristall beobachtet werden (Figur 3)⁵.

Summary. The leaves of *Abutilon striatum* v. Thompson infected with chlorosis proved to contain spheroid virus particles of about 800 Å diameter. Each particle consisted of a central dark staining core of about 160 Å. This central core is surrounded by an inner and an outer envelope. The

particles are found in the cytoplasm, and there is evidence to show that virus particles are able to penetrate into the chloroplasts.

C. N. SUN

Department of Pathology, School of Medicine, St. Louis University, St. Louis (Missouri USA), March 1, 1964.

⁵ Der Autor dankt Dr. SUZANNE SAURESSIG bestens für die Übersetzung der Arbeit ins Deutsche.

Einfluss der DOPA-Transaminierung auf die DOPA-Decarboxylierung *in vitro*

L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) wird im Säuger sowohl durch die Decarboxylase aromatischer L-Aminosäuren (DC)¹ als auch durch eine Transaminase²⁻⁶ umgesetzt. Das quantitative Verhältnis zwischen DOPA-Decarboxylierung und -Transaminierung wurde bisher noch nicht untersucht. Einerseits ist es möglich, dass beide Enzyme um DOPA konkurrenzieren; denn für die DC^{7,8} wurde eine Michaelis-Menten-Konstante von 5×10^{-2} bis $5 \times 10^{-4} M$, für die Transaminase⁴ von $3 \times 10^{-3} M$ angegeben. Andererseits ist es denkbar, dass sich die beiden Reaktionen gegenseitig hemmen. *In vitro* wird nämlich die DC-Aktivität durch die bei der Transaminierung von L-Phenylalanin und L-Tyrosin entstehenden aromatischen α -Ketosäuren erheblich vermindert, z. B. $3 \times 10^{-3} M$ Phenylpyruvat hemmen die DC um mindestens 50%; Metabolite von aromatischen α -Ketosäuren wie Phenyl- und 3,4-Dihydroxyphenylacetat, Phenyllactat, haben eine ähnliche Hemmwirkung⁹⁻¹⁴. DC-Hemmung durch aromatische α -Ketosäuren und ihre Metaboliten ist möglicherweise bei der Oligophrenia phenylpyruvica von wesentlicher Bedeutung^{11-13, 15-20}.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob in normalen Rattengewebe *in vitro* die DOPA-Decarboxylierung durch zugesetztes oder mittels DOPA- α -Ketoglutarat-Transaminierung entstandenes 3,4-Dihydroxyphenylpyruvat (DOPP) beeinflusst wird. Die DC-Aktivität wurde vergleichsweise mit Totalhomogenaten und Überstand gemessen, da in verschiedenen Rattengewebe ein erheblicher Anteil der DOPA-Transaminierung an partikuläre Zellbestandteile gebunden ist²¹.

Methodik. Die Organe weiblicher Wistar-Ratten (90 bis 120 g; 16 h gefastet; Gruppen von mindestens 5 Tieren) wurden unmittelbar nach Dekapitation in Puffer (0,1 M Kalium-Phosphat, pH = 7,4; 2°; N₂-gesättigt) vereint, gewaschen und mittels eines konischen Potter-Elvehjem-Homogenisators (Glas) in 3 Vol Puffer homogenisiert.

Vom Totalhomogenat sowie vom Überstand (Zentrifugieren mit $20000 \times g$ während 30–45 min; 2°) wurden aliquote Teile unter N₂ während 10 min auf 37,5° erwärmt, mit L-DOPA versetzt und weitere 15 min inkubiert. Variable Zusätze: DOPP $2,5 \times 10^{-3} M$; Natrium- α -Ketoglutarat $2,5 \times 10^{-3} M$; Pyridoxal-5'-phosphat $1 \times 10^{-4} M$. Als Leerwerte dienten nicht-inkubierte Ansätze. Die Bestimmung der Decarboxylaseaktivität erfolgte nach DAVIS und AWAPARA²² durch photometrische Messung des neugebildeten Dopamin mit folgenden Modifikationen:

(a) Amberlite CG 50, Typ 2 (H⁺-Form), cyclisiert²³ und mit 8 N Essigsäure gewaschen; (b) Überführung beider Amberliteportionen in die K⁺-Form unmittelbar vor Gebrauch (mittels 0,1 M Kalium-Phosphat-Puffer, pH = 7,4); (c) Dopaminelution der Amberlitesäule durch 20 ml 2 N Essigsäure; (d) Enteiweissung der Gehirnhomogenate mit Ba(OH)₂/ZnSO₄ (pH = 7,1 – 7,4 nach Zentrifugieren des Niederschlages) anstelle der in allen anderen Versuchen verwendeten Äthanol-fällung im kochenden Wasserbad.

Der Ablauf der durch Zusatz von α -Ketoglutarat bedingten DOPA-Transaminierung wurde (nach Enteiweissung mit HClO₄) anhand der Bildung des Boratkomplexes des Enol-DOPP²⁴ sowie von ¹⁴COOH-DOPP aus ¹⁴COOH-L-3,4-DOPA¹⁸ nachgewiesen.

¹ Review in A. PLETSCHER, K. F. GEY und W. P. BURKARD, *Handbuch für experimentelle Pharmakologie*, Erg.-Bd. XIX (Ed. V. Erspamer, Springer-Verlag, Heidelberg), im Druck.

² P. S. CAMMARATA und P. P. COHEN, *J. biol. Chem.* **187**, 439 (1950).

³ Z. N. CANELLAKIS und P. P. COHEN, *J. biol. Chem.* **222**, 63 (1956).

⁴ G. A. JACOBY und B. N. LA DU, *J. biol. Chem.* **239**, 419 (1964).

⁵ F. FONNUM, R. HAAVALDSEN und O. TANGEN, *J. Neurochem.* **11**, 109 (1964).

⁶ R. HAAVALDSEN, *Biochem. J.* (P, in press, 1964).

⁷ H. F. SCHOTT und W. G. CLARK, *J. biol. Chem.* **196**, 449 (1952).

⁸ J. H. FELLMAN, *Enzymologia* **20**, 366 (1959).

⁹ G. J. MARTIN, R. BRENDEN und J. M. BEILER, *Exp. Med. Surg.* **87**, 5 (1949).

¹⁰ W. J. HARTMAN, R. I. AKAWIE und W. G. CLARK, *J. biol. Chem.* **216**, 507 (1955).

¹¹ J. H. FELLMAN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **93**, 413 (1956).

¹² A. N. DAVISON und M. SANDLER, *Nature* **181**, 186 (1958).

¹³ I. HUANG und D. Y. Y. HSIA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **112**, 81, (1963).

¹⁴ J. M. HICKS, D. S. YOUNG und I. D. P. WOOTTON, *Clin. chim. Acta* **9**, 228 (1964).

¹⁵ C. M. B. PARE, M. SANDLER und R. S. STACEY, *Lancet* **II**, 1099 (1958).

¹⁶ J. B. BOYLEN und J. H. QUASTEL, *Biochem. J.* **80**, 644 (1961).

¹⁷ F. B. GOLDSTEIN, *J. biol. Chem.* **236**, 2656 (1961).

¹⁸ H. L. NADLER und Y.-Y. HSIA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **107**, 721 (1961).

¹⁹ F. A. REICHEL, R. C. BALDRIDGE, J. DOBBS und M. TROMPETTER, *J. Am. med. Ass.* **178**, 939 (1961).

²⁰ T. L. PERRY, *Science* **136**, 879 (1962).

²¹ K. F. GEY, in Vorbereitung (1964).

²² V. E. DAVIS und J. AWAPARA, *J. biol. Chem.* **235**, 124 (1960).

²³ C. H. W. HIRS, S. MOORE und W. H. STEIN, *J. biol. Chem.* **200**, 493 (1953).

²⁴ E. C. C. LIN, B. M. PITT, M. CIVEN und W. E. KNOX, *J. biol. Chem.* **233**, 668 (1958).

Resultate und Diskussion. Die DC von Leber- und Gehirnhomogenaten wurde durch Zusatz von DOPP, dem Reaktionsprodukt der DOPA-Transaminierung, erheblich gehemmt (Tabelle I). DOPP hat somit prinzipiell die gleiche Wirkung auf die DC wie andere aromatische α -Ketosäuren¹⁰⁻¹⁴. DOPP selber wurde bei Abwesenheit von L-Glutamat und DOPA in merklichem Ausmass in Dopamin überführt (Tabelle I), d. h. aminiert und decarboxyliert. Eine rückläufige Aminierung aromatischer α -Ketosäuren wurde bereits mit DOPP und 3-Hydroxyphenylpyruvat *in vivo*²⁵ sowie mit 4-Hydroxypyruvat *in vitro*^{5,26} beobachtet.

Im Totalhomogenat und Überstand aller untersuchten Gewebe bewirkte die durch Zugabe von α -Ketoglutarat in

Gang gesetzte DOPA-Transaminierung keine signifikante Verminderung der DC-Aktivität (Tabelle II). Die DOPA- α -Ketoglutarat-Transaminierung scheint daher so gering zu sein, dass die für eine Hemmung der DOPA-Decarboxylierung notwendige Konzentration an DOPP nicht erreicht wird. Vorläufige Bestimmung der DOPA-Transaminase (mit ¹⁴COOH-DOPA)²¹ bestätigen, dass die Aktivität dieses Enzyms in den meisten Rattengeweben relativ gering ist.

In der Aorta der Ratte war die DC-Aktivität etwas geringer als diejenige des Herzens (Tabelle II). Die DC-Aktivität der übrigen Organe (Tabelle II) entsprach der bekannten Reihenfolge der DC-Aktivität in Rattenorganen¹. Totalhomogenate zeigten im allgemeinen eine geringere DC-Aktivität als Überstand, was sich wahrscheinlich weitgehend durch die Lokalisierung der DC im Überstand¹ erklären lässt.

Summary. *In vitro* the decarboxylation of L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) by total homogenate of rat liver and brain was markedly inhibited by $2.5 \times 10^{-3}M$ 3,4-dihydroxyphenylpyruvate, although the latter itself appeared to be aminated to a marked extent. In the homogenate or supernatant of various rat tissues, the decarboxylation of DOPA was not significantly affected by the simultaneous course of the DOPA- α -ketoglutarate-transamination.

K. F. GEY und F. MESSIHA

Medizinisch-chemisches Institut der Universität Bern und Abteilung für experimentelle Medizin der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel (Switzerland), 1. Juli 1964.

Tabelle I. Hemmung der DOPA-Decarboxylierung in Leber- und Gehirn-Totalhomogenat durch Zusatz von 3,4-Dihydroxyphenylbrenztraubensäure (DOPP)

Gewebe	Zusätze	Decarboxylaseaktivität in %	
		Pyridoxal-5'-Phosphat —	+
Leber	L-DOPA	100	100
	L-DOPA + DOPP	66	27
	DOPP	20	7
		$\Delta = 46$ $\Delta = 21$	
Gehirn	DOPA	100	100
	DOPA + DOPP	22	52
	DOPP	68	25
		$\Delta = 0$ $\Delta = 27$ (– 47)	

Mittelwerte von je 2 Doppelbestimmungen. Endkonzentrationen in 0,1M Phosphatpuffer (Endvol. 4,0 ml): $2,5 \times 10^{-3}M$ L-DOPA; $2,5 \times 10^{-3}M$ DOPP; $1 \times 10^{-4}M$ Pyridoxal-5'-Phosphat; 0,3 ml Leberhomogenat oder 3,0 ml Gehirnhomogenat.

²⁵ R. S. POGRUND, W. DRELL und W. G. CLARK, J. Pharmacol. exp. Ther. 131, 294 (1961).

²⁶ Z. N. CANELLAKIS und P. P. COHEN, J. biol. Chem. 222, 53 (1956).

Tabelle II. DOPA-Decarboxylierung in Rattengewebe ohne und mit gleichzeitiger DOPA- α -Ketoglutarat-Transaminierung

Gewebe	Präparation	DC-Aktivität in μM Dopamin/g (feucht)/h ohne α -Ketoglutarat		DC-Aktivität in % von Kontrollen mit α -Ketoglutarat	
		Pyridoxal-5'-Phosphat			
		—	+	—	+
Leber	H	19,4 \pm 1,7 (8)	36,2 \pm 4,1 (8)	95 \pm 7 (7)	88 \pm 6 (8)
	Ü	21,6 \pm 2,2 (10)	54,0 \pm 4,2 (11)	106 \pm 7 (3)	95 \pm 6 (4)
Niere	H	18,5 \pm 1,8 (3)	66,3 \pm 4,9 (4)	115 \pm 9 (3)	103 \pm 3 (4)
	Ü	24,5 \pm 1,4 (3)	84,5 \pm 3,8 (8)	99 \pm 5 (2)	—
Dünndarm	H	1,6 \pm 0,2 (3)	18,6 \pm 4,7 (5)	125 \pm 15 (3)	125 \pm 1 (4)
	Ü	1,7 \pm 0,1 (3)	15,4 \pm 3,7 (4)	—	109 \pm 4 (3)
Aorta	H	< 0,01 (2)	1,7 \pm 0,8 (2)	—	115 (1)
Herz	H	0,4 (1)	3,5 \pm 0,1 (2)	100 (1)	99 \pm 2 (2)
	Ü	1,0 (1)	1,8 \pm 0,3 (4)	—	120 (1)
Skelettmuskel	H	0,5 \pm 0,2 (2)	0,4 \pm 0,1 (7)	137 \pm 14 (3)	115 \pm 26 (3)
	Ü	0,1 \pm 0,1 (2)	0,3 \pm 0,1 (5)	120 (1)	93 \pm 1 (2)
Gehirn	H	1,3 \pm 0,1 (4)	2,1 \pm 0,4 (3)	125 \pm 13 (4)	101 \pm 18 (3)
	Ü	2,3 \pm 1,3 (4)	3,2 \pm 1,0 (7)	109 \pm 9 (2)	121 \pm 7 (5)
Nebenniere	H	8,6 \pm 2,4 (2)	26,7 \pm 6,1 (2)	57 \pm 14 (2)	123 \pm 7 (2)
Blut	T	< 0,01 (5)	< 0,01 (5)	—	—

Die Zahlen in Klammern bedeuten Zahl der Doppelbestimmungen mit Organ-Pools von jeweils mindestens 5 Tieren. H = Totalhomogenat; Ü = Überstand; T = heparinisiertes Totalblut (1 Tropfen Liquemin®/5 ml) mit 3 Vol Puffer verdünnt. Endkonzentrationen in 0,1M Phosphatpuffer (Endvol. 4,0 ml): $2,5 \times 10^{-3}M$ L-DOPA; $2,5 \times 10^{-3}M$ Natrium- α -Ketoglutarat; $1 \times 10^{-4}M$ Pyridoxal-5'-Phosphat; je 0,3 und 1,0 ml Leber-, Nieren-, Herz-, Nebennierenhomogenat und -überstand bzw. je 1,0 und 3,0 ml Gehirn-, Skelettmuskel-, Aorta-, Dünndarmhomogenat und -überstand.