

Fig. 1

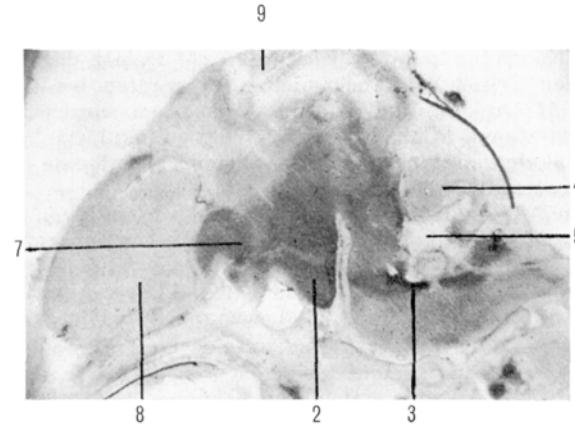


Fig. 2

Fig. 1. A transverse section ($\times 2.6$); Fig. 2, a sagittal section ($\times 2.5$) of the brain of chick embryo on 9 days' incubation. The hypothalamus, the preoptic area, the part adjacent to the sulcus limitans, and the raphe show an intense activity of monoamine oxidase. 1 sulcus limitans, 2 hypothalamus, 3 raphe, 4 cerebellum, 5 fourth ventricle, 6 third ventricle, 7 preoptic area, 8 striatum, 9 tectum opticum.

The fundamental idea that the neural tube is divided into longitudinal columns may also be adapted to the chemoarchitectonics, as far as the visceral and somatic columns are concerned. In addition, the monoamine oxidase distribution in the mammalian brain³ is assumed to be able to be explained from the author's results.

Zusammenfassung. Die histochemische Verteilung der Monoaminoxidase- und Succinodehydrogenase-Aktivität im Zentralnervensystem des Hühnerembryos wurde nach der Methode von Glenner und Nachlas geprüft. Die Monoaminoxidaserreaktion ist in der viszeralen Säule, entlang dem Sulcus limitans, in Hypothalamus, Area preoptica, Hippocampus und Raphe stark, während die Succino-

dehydrogenasereaktion nur in den somatischen Teilen stärker zu sein scheint. Auf Grund dieser Befunde ist es wahrscheinlich, dass das Neuralrohr in longitudinale, viscerale und somatische Säulen unterteilt ist.

H. MASAI, T. KUSUNOKI,
and H. ISHIBASHI

Department of Anatomy, Yokohama University School of Medicine, Yokohama (Japan), February 5, 1965.

³ P. H. HASHIMOTO et al., Med. J. Osaka Univ. 12, 425 (1962).

Na⁺-K⁺-aktivierbares Adenosintriphosphatase-System: Die Wirkung von Triton-X-100 auf die SH-Gruppen

Der Effekt von Triton-X-100¹ auf die Na⁺-K⁺-ATPase² von Rattengehirn ist biphasisch^{3,4}. Bis zu einer gewissen Konzentration wird die Enzymaktivität gesteigert, bei höheren Konzentrationen hingegen wird sie gehemmt. Da die Funktion der Na⁺-K⁺-ATPase an SH-Gruppen gebunden ist⁵, wurde untersucht, ob eine Detergensbehandlung des Enzympräparates die Reaktionsfähigkeit der SH-Gruppen verändert.

Als Folge der Einwirkung von Triton-X-100 werden maskierte SH-Gruppen freigesetzt (Figur 1). Bei einer Konzentration von 0,025%, bei der die Na⁺-K⁺-ATPase-Aktivität maximal gesteigert wird, wurden 45% mehr SH-Gruppen gefunden als bei der Kontrolle. Eine Triton-X-100-Konzentration von 0,15% verdoppelt etwa die erfassbare Menge der SH-Gruppen. Die Triton-X-100-Behandlung des Enzympräparates verändert die Wirkung

von SH-Giften auf die ATPase-Aktivität. Halbmaximale Hemmung der Na⁺-K⁺-ATPase wurde in Kontrollpräparaten bei einer PCMB⁶-Konzentration von 20 μM erreicht, eine annähernd vollständige Hemmung bei 40 μM . (Die Aktivität der Na⁺-K⁺-ATPase = Aktivität in Gegenwart von Mg⁺⁺ + Na⁺ + K⁺ minus Aktivität in Anwesenheit von Mg⁺⁺ allein.) Unter gleichen Versuchsbedingungen lag die halbmaximale Hemmung in den Triton-X-100-behandelten Präparaten bei etwa 60 μM

¹ Triton-X-100, Octylphenol-decaäthylenglykoläther, Firma Serva, Heidelberg.

² Na⁺-K⁺-ATPase, Na⁺-K⁺ aktivierbares Adenosintriphosphatase-System.

³ J. SOMOGYI, Naturwissenschaften 50, 157 (1963).

⁴ J. SOMOGYI, Naturwissenschaften 51, 143 (1964).

⁵ J. CHR. SKOU, Biochem. biophys. Res. Commun. 10, 79 (1963).

⁶ PCMB, *p*-Hydroxy-mercuribenzoat, Na-Salz, Firma Serva, Heidelberg.

(Figur 2). 50%ige Hemmung der Mg^{++} -ATPase wurde in den Kontrollpräparaten bei etwa $40 \mu M$ PCMB, dagegen in den Triton-X-100-behandelten Präparaten bei über $80 \mu M$ erreicht. In den obigen Versuchen wurden die Präparate mit PCMB bei $37^\circ C$ 2,5 min vorinkubiert. Eine Vorinkubationsdauer von 0,5–10 min beeinflusste die Hemmung nicht wesentlich.

Die ATPase-Hemmung durch NEM⁷ war stark von der Dauer der Vorinkubation abhängig. Bei einer Konzentration von $1 mM$ NEM verminderte sich sowohl die Mg^{++} -ATPase-Aktivität als auch die Na^+-K^+ -ATPase-Aktivität in den Kontrollpräparaten, und zwar annähernd linear zur

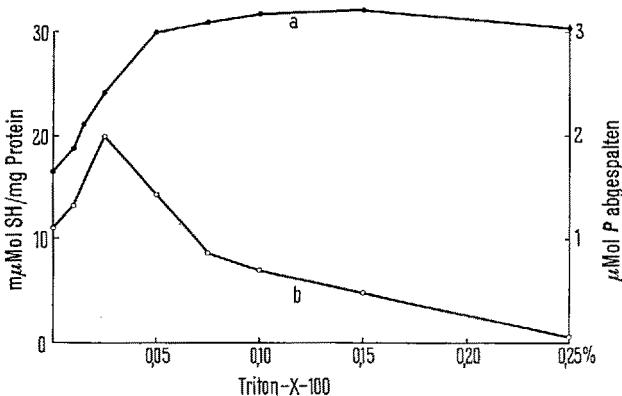


Fig. 1. Die Wirkung von Triton-X-100 auf die SH-Freisetzung und auf die Na^+-K^+ -ATPase-Aktivität. Enzymsuspensionen (Darstellung der Fraktion P s.⁸) wurden mit verschiedenen Konzentrationen von Triton-X-100 (Werte der Abscisse) bei $0^\circ C$ vorinkubiert (1 mg Protein/ml in den vorinkubierten Suspensionen). Nach 20 min wurden die ATPase-Aktivitäten nach⁹ gemessen und die SH-Bestimmungen nach⁹ durchgeführt. (Die Farbintensität bei der SH-Bestimmung wurde eine Stunde nach Zugabe von DTNB¹⁰ gemessen.) Ordinate – Linke Skala: SH in $m\mu M$ ol/mg Protein, Kurve a. Skala rechts: Na^+-K^+ -ATPase-Aktivität in μM ol P abgespalten/Ansatz/10 min, Kurve b. Abscisse: Konzentration von Triton-X-100 (V/V).

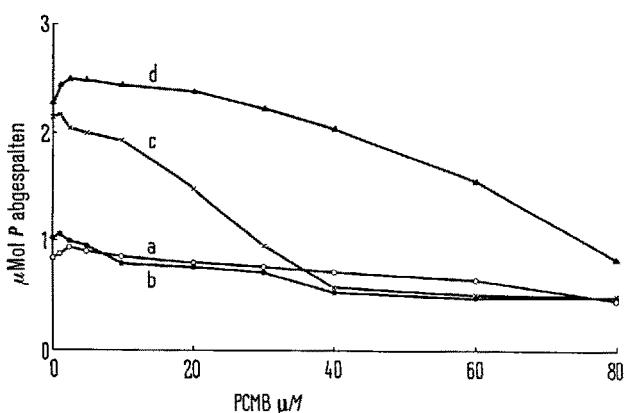


Fig. 2. Die Wirkung von PCMB auf die ATPase-Aktivität. Enzymsuspensionen (2 mg Protein) wurden entweder ohne Triton-X-100, oder in Gegenwart von 0,05% Triton-X-100 in 1,8 ml Endvolumen 20 min bei $0^\circ C$ vorinkubiert, dann mit entsprechenden Mengen von PCMB in 0,2 ml 2,5 min bei $37^\circ C$ weiterinkubiert. Von diesen Suspensionen wurden 0,2 ml in die vorbereiteten Ansätze pipettiert. Abscisse: Konzentration von PCMB in μM in den vorinkubierten Suspensionen. Ordinate: ATPase-Aktivität in Gegenwart von a, Mg^{++} mit Triton; b, Mg^{++} ohne Triton; c, $Mg^{++} + Na^+ + K^+$ ohne Triton; d, $Mg^{++} + Na^+ + K^+$ mit Triton.

Vorinkubationsdauer (Figur 3, Kurve b, c). In den Triton-X-100-behandelten Präparaten veränderten sich die verschiedenen Aktivitäten unter ähnlichen Bedingungen nicht in gleicher Weise. Nach kurzer Vorinkubation nimmt die Mg^{++} -ATPase-Aktivität, nach längerer Vorinkubation die Na^+-K^+ -ATPase-Aktivität deutlicher ab (Figur 3, Kurve a, d). Letztere Befunde gehen konform mit den Angaben von SKOU⁵ über Präparate, die mit Desoxycholat hergestellt wurden.

Auf Grund unserer Untersuchungen kann festgestellt werden, dass in den Na^+-K^+ -ATPase-Präparaten aus Rattengehirn der wesentliche Teil der SH-Gruppen in maskierter Form vorliegt. Wahrscheinlich gibt es einen Zusammenhang zwischen der Freisetzung der SH-Gruppen und der Veränderung der ATPase-Aktivität. Die von PCMB und NEM hervorgerufenen Hemmungseffekte der ATPasen unterscheiden sich bei den Triton-X-100-behandelten Präparaten von denjenigen, die keine Detergentien enthalten¹¹.

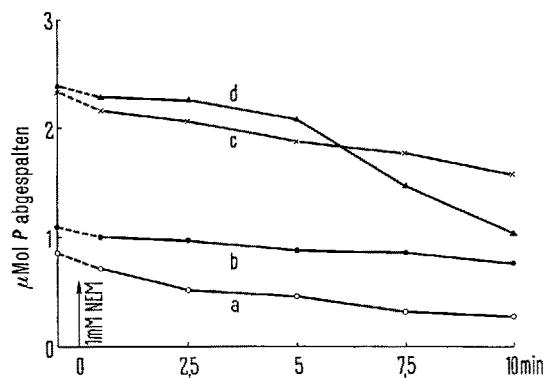


Fig. 3. Wirkung von NEM auf die ATPase-Aktivität. Enzymsuspensionen (2 mg Protein) wurden entweder ohne Triton-X-100, oder in Gegenwart von 0,05% Triton-X-100 in 1,8 ml Endvolumen 20 min bei $0^\circ C$ vorinkubiert, dann mit der entsprechenden Menge von NEM in 0,2 ml bei $37^\circ C$ weiterinkubiert. In den dargestellten Zeitpunkten (Werte der Abscisse) wurden 0,2 ml Enzymsuspension in die vorbereiteten Reaktionsgemische zugegeben. Abscisse: Vorinkubationszeit in min. Ordinate: ATPase-Aktivität in μM ol P abgespalten/Ansatz/10 min, in Gegenwart von a, Mg^{++} mit Triton; b, Mg^{++} ohne Triton; c, $Mg^{++} + Na^+ + K^+$ ohne Triton; d, $Mg^{++} + Na^+ + K^+$ mit Triton.

Summary. A significant portion of the SH-groups of the rat-brain Na^+-K^+ -ATPase preparation is masked; it can be unmasked by the treatment of Triton-X-100. The inhibitory effects of PCMB and NEM on the ATPase activity are different in the detergent-treated and untreated preparations.

J. SOMOGYI und J. G. GAÁL

Experimentelles Forschungslaboratorium der
Medizinischen Universität, Budapest (Ungarn),
11. März 1965.

⁷ NEM, N-Äthylmaleimid, Fluka.

⁸ J. SOMOGYI und S. VINCZE, Acta physiol. hung. 20, 325 (1961).

⁹ G. L. ELLMAN, Arch. Biochem. Biophys. 82, 70 (1959).

¹⁰ DTNB, 5,5'-Dithio-bis-(2-nitrobenzoësäure), Aldrich Chemical Co., Milwaukee (USA).

¹¹ Frau MÁRIA BUDAI sind wir für ihre wertvolle Mitarbeit zu besonderem Dank verpflichtet.