

macodynamique (plus de 40% dans l'ensemble de nos expériences); un petit nombre d'animaux arrive à vivre de 48 à 50 h dans ces conditions; des injections de sérum glucosé permettent de dépasser nettement ce seuil

puisque'une souris a vécu ainsi près de 70 h. Nous n'avons pas observé de différence de résistance à l'hypothermie prolongée entre les animaux mâles et femelles, entre les souriceaux et les adultes.

Tableau I

	plus de 20 h	plus de 30 h	plus de 40 h
Souris adultes, mâles et femelles	41,86%	13,49%	5,88%
Souriceaux, mâles et femelles	44,25%	21,26%	3,44%

Tableau II

Nombre d'heures connues de vie à 20-23°C	moins de 8	8-16	16-24	24-32	32-40	40-48
Nombres d'adultes mâles	86	47	16	61	10	9
Nombre de souriceaux femelles	56	11	14	55	8	6

Summary. We have found that mice can be made to live for more than 20 h when they are kept in hypothermia at 20 or 23°C without using any pharmacodynamic agents (more than 40% over the whole of our experiments); a small number of animals succeed in living from 48 to 50 h under such conditions; injections with serum containing glucose allow this limit to be easily surpassed, since a mouse thus lived for 70 h. We have noted no difference in the resistance to prolonged hypothermia between males and females, or between the young mice and the adult ones.

J. FLATIN et M. DELSOL

Laboratoire de Biologie générale, Université Catholique de Lyon (France), le 17 septembre 1965.

⁴ R. ANDJUS, Thèse Faculté des Sciences Université Beograd (1953).

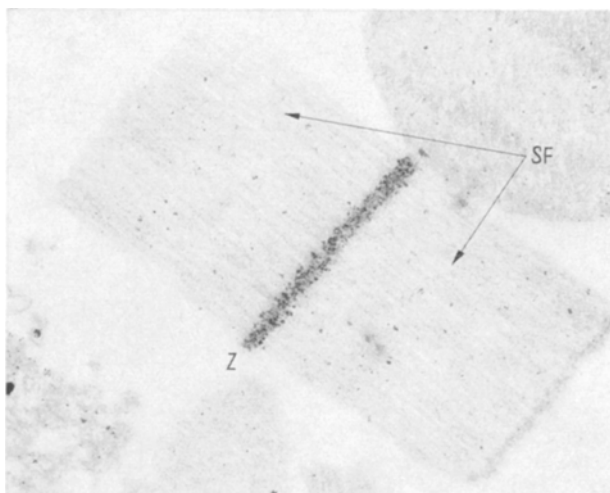
⁵ A. G. WARRE, N. M. HILL et F. H. SCHULTZ, *Am. J. Physiol.* **149**, 657 (1947).

⁶ L. ARIEL, F. W. BISHOP et S. L. WARREN, *Cancer Res.* **3**, 448 (1943).

Zur Spaltung von Adenosintriphosphat durch die Z-Scheiben der indirekten Flugmuskeln von *Phormia regina* (Diptera)

In vorausgegangenen Veröffentlichungen wurde über Experimente zur Lokalisation ATP-spaltender Reaktionen in der Feinstruktur von Insektenflugmuskeln berichtet. Durch Fällung des enzymatisch freigesetzten anorganischen Phosphats mittels Pb^{++} liess sich dabei zeigen, dass die ATPase-Aktivität sowohl im A-Band als auch in der Z-Scheibe enthalten ist. Die ATP-Spaltung im A-Band konnte auf die Anwesenheit von Myosin in diesem Abschnitt zurückgeführt werden. Eine Deutung der in der Z-Scheibe lokalisierten Aktivität war dagegen nicht möglich. Versuche, die ATPase des A-Bandes und der Z-Scheibe getrennt voneinander zu demonstrieren, hatten nur teilweise Erfolg^{1,2}.

In neuen Experimenten wurde nun versucht, das Myosin aus isolierten Myofibrillen quantitativ zu extrahieren, um auf diese Weise beide Enzyme einwandfrei voneinander zu trennen. Die für diesen Zweck gewöhnlich verwendeten Lösungen^{3,4} erwiesen sich als unwirksam. Erst eine erhebliche Erhöhung der Ionenstärke führte zum gewünschten Ergebnis: 1,0 M KCl, 0,05 M Tris/HCl-Puffer, pH 7,0, 0,01 M Na-Pyrophosphat, 0,001 M $MgCl_2$ ⁵. In diesem Gemisch lassen die Myofibrillen bereits nach wenigen min eine Steigerung des Kontrasts der vorher nur schwer erkennbaren Querstreifung beobachten. Die A-Banden hellen sich auf und nicht selten wird der Zentralabschnitt der Sarcomere völlig durchsichtig. Das ent-



Isolierte Z-Scheibe (Z) mit anhaftenden Sekundärfilamenten (SF) nach quantitativer Extraktion des Myosins (30 min mit dem 15-fachen Volumen bei 0°C, darauf 4mal je 15 min mit der gleichen Menge frischen Mediums). Der Niederschlag von Bleiphosphatkristalliten ist auf die Struktur der Z-Scheibe beschränkt. $\times 31500$.

¹ E. ZEBE und H. FALK, *Z. Naturforsch.* **18b**, 501 (1963).

² E. ZEBE und H. FALK, *Histochemie* **4**, 161 (1964).

³ W. HASSELBACH und G. SCHNEIDER, *Biochem. Z.* **321**, 462 (1951).

⁴ H. E. HUXLEY und J. HANSON, *Biochim. biophys. Acta* **23**, 229 (1957).

spricht dem von HUXLEY beschriebenen Bild vom Verschwinden der Primärfilamente infolge der Extraktion des Myosins⁴. Die Mehrzahl der Myofibrillen zeigt jedoch eine dunkle Querlinie genau im Zentrum der Sarcomere. Elektronenmikroskopisch lässt sich dann die Ausbildung von Kontraktionsbanden erkennen, die durch das ineinandergreifen der benachbarten Sätze von dünnen Filamenten zustande kommen. Dicke Filamente sind dagegen in keinem Falle wahrnehmbar. Solche extrahierte Myofibrillen neigen dazu, bereits bei geringster mechanischer Beanspruchung (z.B. durch Plümpern) in einzelne Z-Scheiben mit anhaftenden dünnen Filamenten zu zerfallen. Sie enthalten auch nur noch etwa 15% des Proteins der unextrahierten Myofibrillen.

Nach der Inkubation zum ATPase-Nachweis zeigen die extrahierten Myofibrillen eine ähnliche Anhäufung von Bleiphosphatkristalliten auf der Z-Scheibe, wie sie für unextrahierte charakteristisch ist². Die übrigen Abschnitte der Sarcomere sind dagegen praktisch frei von Niederschlag. Demnach geschieht die ATP-Spaltung durch extrahierte Myofibrillen ausschliesslich in der Z-Scheibe. Die quantitative Bestimmung des unter diesen Bedingungen freigesetzten Phosphats lieferte Werte, die

1,5 bis 5,0% des Umsatzes unextrahierter Kontrollen ausmachen. Die Aktivität der Z-Scheiben-ATPase dürfte danach auf Protein bezogen in der gleichen Grössenordnung liegen wie die der Myosin-ATPase, (da in den extrahierten Myofibrillen ja noch das Actin enthalten ist,) vorausgesetzt allerdings, dass durch die Extraktion nicht auch enzymatisch aktives Material der Z-Scheibe entfernt wurde⁶.

Summary. ATP splitting is demonstrated to occur in the Z discs of isolated flight muscle myofibrils of *Phormia regina* after the quantitative extraction of myosin.

E. ZEBE

Physiologischer Lehrstuhl, Zoologisches Institut der Universität Heidelberg (Deutschland), 27. August 1965.

⁵ D. GILMOUR und P. M. ROBINSON, J. Cell Biol. 21, 385 (1964).

⁶ Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Some Evidence for Pancreatic-Adrenal Interaction Following Lethal Doses of 1-Aminocyclopentanecarboxylic Acid¹

Previous experiments have indicated the presence of adrenal hyper-activity following administration of lethal doses of 1-aminocyclopentane-carboxylic acid (NSC-1026) to rats². Further studies were undertaken to determine the effects of NSC-1026 on blood glucose levels and liver glycogen levels.

Material and methods. Blood glucose levels. 32 male Wistar rats (175–225 g) were bled for initial blood glucose levels (0.5 ml of blood taken by heart puncture under light ether anesthesia). 3–4 h following the initial bleeding, four groups were injected intraperitoneally with one of the four test solutions: 1500 mg/kg NSC-1026, 1500 mg/kg

L-leucine, 1500 mg/kg L-valine, or 1500 mg/kg α -aminoisobutyric acid (AIB). One group was kept as control. All animals were bled (0.5 ml of blood taken as stated above) every 24 h for four days following the initial bleeding, and all were given food and water ad libitum.

29 rats were bilaterally adrenalectomized at least four days prior to initial bleedings. All rats were maintained on daily subcutaneous injections of desoxycorticosterone (400 μ g/100 g body weight) and cortisol (100 μ g/100 g body weight) and given 1% NaCl as drinking water. Three groups of rats received an intraperitoneal injection of either 1500 mg/kg NSC-1026, 1500 mg/kg L-leucine, or

¹ This investigation was supported by US Department of Health, Education and Welfare Grant CA-06402.

² L. M. CIOFALO and M. E. ROBERTS, Exper. 20, 707 (1964).

Table I. Blood glucose levels of intact and adrenalectomized rats

Treatment	No. of rats	Blood sugar (mg/100 ml blood) ^a				
		Control	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4 ^b
Intact rats						
Control	8	121 ± 1.7	115 ± 2.2	111 ± 2.8	115 ± 1.9	121 ± 2.8 (8)
1500 mg/kg L-leucine	5	114 ± 4.2	113 ± 2.6	134 ± 2.8	122 ± 2.8	120 ± 4.1 (5)
1500 mg/kg L-valine	6	112 ± 2.2	110 ± 3.1	135 ± 3.1	118 ± 3.5	118 ± 4.2 (6)
1500 mg/kg AIB	5	117 ± 2.0	124 ± 2.6	119 ± 2.2	119 ± 4.5	119 ± 2.6 (5)
1500 mg/kg NSC-1026	8	108 ± 2.9	118 ± 2.9	141 ± 3.4	147 ± 6.0	132 ± 9.4 (8)
Adrenalectomized rats						
Control	6	114 ± 2.0	113 ± 1.0	114 ± 4.8	114 ± 2.1	119 ± 3.7 (6)
1500 mg/kg L-leucine	5	117 ± 1.8	127 ± 2.9	122 ± 1.5	120 ± 2.9	119 ± 0.8 (5)
1500 mg/kg L-valine	5	112 ± 1.9	118 ± 3.8	118 ± 2.5	124 ± 3.0	124 ± 3.6 (5)
1500 mg/kg NSC-1026	13	121 ± 1.7	105 ± 2.3	102 ± 3.7	90 ± 5.4	87 ± 7.6(11)

* Mean \pm standard error. ^b Number in parenthesis indicates surviving rats.