

ages of readings from homologous reactions. An R value of 1 corresponds to the homologous reaction.

$$R = \sqrt{\frac{\text{reading: serum A vs antigen B}}{\text{reading: serum A vs antigen A}}} \times \sqrt{\frac{\text{reading: serum B vs antigen A}}{\text{reading: serum B vs antigen B}}}$$

One-sided cross reactions ($R = 0$) were observed with antisera of types 2 (antigens 5 and 7), 4 (antigens 3, 5, 6, 7 and 10), 10 (antigen 5) and 13 (antigen 5). The readings corresponding to these reactions did not exceed 10% of the readings obtained with homologous antigen, except those of antiserum type 2 with antigen type 7 (32%); antiserum type 4 with antigen types 3 (31%), 7 (18%) and 10 (121%); and antiserum type 10 with antigen type 7 (19%).

An absolute precision of about ± 3 fluorometer scale readings can be achieved, the relative error thus depending on the absolute value of fluorometer readings.

Since both type-specific and group-specific antigens give immunoprecipitates in the Ouchterlony test⁵⁻⁸, and adenovirus virions are agglutinated by type-specific antibodies⁹, the fluorescent precipitin test undoubtedly measures all these antigens when present in a crude preparation. The observed cross reactions thus include not only real crossings between type-specific adenovirus antigens but also must reflect the presence of some group-specific sites in the preparations tested. It is noteworthy that the greatest reciprocal cross reaction in our experiments was observed between types 3 and 7a adenovirus antigens, two types in which the serological relationship has been well established¹⁰⁻¹⁵. Recent data suggest that besides the type-specific antigen of adenoviruses, the group-specific antigen also contains type-specific sites probably different from those of type-specific antigen¹⁶⁻¹⁸. The preponderance of type-specific binding sites in each of the crude antigen preparations tested might be responsible for the relative type specificity of the fluorescent precipitin test. It should be emphasized that the values of R presented in the Table indicate relative type specificity in the fluorescent precipitin test in spite of the quantitative differences in the preparations.

The greatest advantages of the present method are the high sensitivity combined with high precision (about $\pm 5\%$ under the usual conditions) and the possibility of directly measuring the interrelationships between antigens and antibodies.

Zusammenfassung. Es wird die Anwendung eines quantitativen Fluoreszenz-Präzipitin-Tests für Adenovirus-Antigene beschrieben. Die Methode wurde für 11 verschiedene Adenoviren angewendet und hat sich als relativ typenspezifisch erwiesen.

A. R. NEURATH, B. A. RUBIN, and S. K. VERNON

Division of Research and Development, Wyeth Laboratories Inc., Philadelphia (Pennsylvania 19101, USA), May 16, 1966.

- ⁵ H. G. KLEMPERER and H. G. PEREIRA, *Virology* 9, 536 (1959).
- ⁶ H. G. PEREIRA, *Nature* 186, 571 (1960).
- ⁷ A. C. ALLISON, H. G. PEREIRA, and C. P. FARTHING, *Virology* 10, 316 (1960).
- ⁸ W. C. WILCOX and H. S. GINSBERG, *Proc. natn. Acad. Sci. USA* 47, 512 (1961).
- ⁹ K. O. SMITH, M. TROUSDALE, and W. GEHLE, *J. Immun.* 95, 810 (1965).
- ¹⁰ M. R. HILLEMANN, F. J. FLATLEY, S. A. ANDERSON, M. L. LUECKING, and D. J. LEVINSON, *J. Immun.* 80, 299 (1958).
- ¹¹ J. VAN DER VEEN and A. PRINS, *J. Immun.* 84, 562 (1960).
- ¹² H. FUKUMI, F. NISHIKAWA, M. TAKEMURA, Y. ODAKA, F. SAKUMA, and Y. KURITA, *Jap. J. med. Sci. Biol.* 14, 173 (1961).
- ¹³ B. MARTINEAU, *Canad. med. Ass. J.* 84, 43 (1961).
- ¹⁴ M. MATUMOTO, S. UCHIDA, T. HOSHIKA, and T. MATSUYAMA, *Jap. J. exp. Med.* 28, 305 (1958).
- ¹⁵ R. WIGAND, H. BAUER, F. LANG, and W. ADAM, *Arch. Virusforsch.* 15, 188 (1965).
- ¹⁶ W. C. WILCOX and H. S. GINSBERG, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 114, 37 (1963).
- ¹⁷ P. A. BANKS, J. A. KASEL, M. HUBER, R. H. ALFORD, and V. KNIGHT, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 121, 240 (1966).
- ¹⁸ K. KÖHLER, *Z. Naturf.* 20b, 747 (1965).

ACTH-Stimulierung der Corticosteroidbiosynthese durch Freisetzung «gebundener» 21-Desoxypregne

Nach HAYNES und BERTHET^{1,2} beruht die Stimulierung der Corticosteroidbiosynthese durch ACTH auf einer vermehrten Bereitstellung des für die Steroid-Hydroxylierung benötigten^{3,4} NADPH. KORITZ und PÉRON⁵ postulierten einen zusätzlichen ACTH-Effekt, der auf der Freisetzung «gebundener» Endogenpräkursoren der Corticosteroide beruht.

Eigene Untersuchungen über die in vitro Biosynthese von 4-C¹⁴-Corticosteroiden aus 4-C¹⁴-Cholesterin und 4-C¹⁴-Progesteron geben Anlass zu der Annahme, dass ACTH den Abbau von 21-Desoxypregnenen ermöglicht, welche nach ihrer Bildung aus Cholesterin in intaktem, adrenalem Rindengewebe zunächst in einer Form vorliegen, in der sie der Corticosteroidsynthese ohne Konditionierung durch ACTH nicht zugänglich sind.

Schnitte (0,5–1 mm³ Würfelchen) der äusseren Rindenzone frischer Rindernebennieren wurden in Krebs-Ringer-Bikarbonat-Glukose-(KRBG)-Lösung unter ständigem Begasen mit 95% O₂ + 5% CO₂ bei 37°C in einer Schüttelapparatur inkubiert. Nach Vorinkubationen von 30 min und – nach Erneuerung des Mediums – von weiteren 15 min Dauer wurde je Ansatz 1 g Gewebe in 10 ml frischer KRBG-Lösung mit 1,6 µCi (150 µg) 4-C¹⁴-Cholesterin bzw. 4-C¹⁴-Progesteron 120 min lang inkubiert. Pro Ansatz wurden zu Beginn der Hauptinkubation 8 IE ACTH («Cortrophine» Organon) zugesetzt. Der Prozent-

- ¹ R. C. HAYNES and L. BERTHET, *J. biol. Chem.* 225, 115 (1957).
- ² R. C. HAYNES, E. W. SUTHERLAND and T. W. RALL, *Rec. Progr. Horm. Res.* 16, 121 (1960).
- ³ J. K. GRANT and A. C. BROWNIE, *Biochim. biophys. Acta* 18, 433 (1955).
- ⁴ M. L. SWEAT and M. D. LIPSCOMB, *J. Am. chem. Soc.* 77, 5185 (1955).
- ⁵ S. B. KORITZ and F. G. PÉRON, *J. biol. Chem.* 230, 343 (1958).

satz der inkorporierten Präkursor-Radioaktivität wurde in den aus Gewebe + Medium isolierten Corticosteroiden Progesteron (P), Cortexon (DOC), Corticosteron (B), Aldosteron (ALD), 17 α -OH-Progesteron (OH-P), 17 α -OH-Cortexon (S), Cortisol (F) und Cortison (E) bestimmt. An anderer Stelle wurden die Methoden eingehend beschrieben, und die Eignung der Versuchsanordnung für Regulationsstudien diskutiert⁶.

Nach Kontrollinkubationen wurden die höchsten Anteile der eingesetzten 4-C¹⁴-Cholesterin-Radioaktivität in den 21-Desoxypregnenen P und OH-P gemessen, während in den Syntheseweg- und -endprodukten nur relativ geringfügige Anteile festgestellt wurden (Figur 1a). Umgekehrt wurde eingesetztes 4-C¹⁴-Progesteron fast vollständig umgesetzt, in OH-P wurden minimale Anteile der

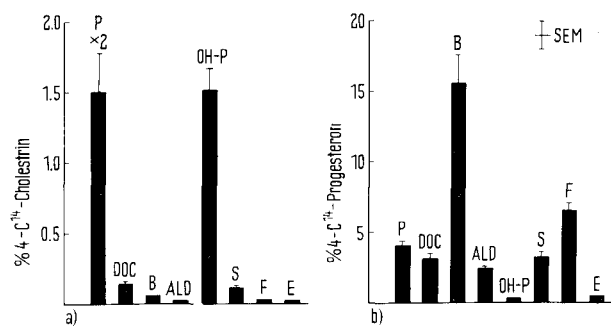


Fig. 1. Inkorporation der Präkursor-Radioaktivität [(a) 4-C¹⁴-Cholesterin; (b) 4-C¹⁴-Progesteron] in die Corticosteroide (%/g Gewebe/120 min).

Präkursor-Radioaktivität gemessen, und die höchsten Einbausraten wurden für die Syntheseendprodukte B und F ermittelt (Figur 1b). Während exogenes Progesteron und daraus entstandenes OH-P offenbar spontan in die Syntheseendprodukte umgewandelt werden, scheint die 21-Hydroxylierung der aus exogenem Cholesterin entstandenen 21-Desoxypregnene P und OH-P gehemmt zu sein, sie werden angestaut und die Ausbeute an Syntheseendprodukten ist relativ gering. Ein Vergleich⁶ des aus der Inkubation von 4-C¹⁴-Cholesterin mit NNR-Homogenat⁷ erhaltenen Corticosteroid-Synthesemusters mit dem aus der Inkubation von 4-C¹⁴-Progesteron mit NNR-Schnitten erhaltenen ergab andererseits völlige Übereinstimmung. Danach existiert die Einschränkung der Corticosteroidbildung aus Cholesterin nur in intaktem Nebennierenrindegewebe. Die Annahme einer an intakte Gewebestrukturen gebundenen, relativen Hinderung der Corticosteroidsynthese aus Cholesterin wird gestützt durch Ergebnisse von SANDOR, LAMOUREUX und LANTHIER⁸, wonach 4-C¹⁴-Cholesterin durch Homogenat, nicht aber durch Schnitte aus Entennebennieren zu 4-C¹⁴-Corticosteron umgesetzt wird.

ACTH stimulierte die Bildung von B, F, E und ALD bei der Umsetzung von 4-C¹⁴-Cholesterin, hatte keine signifikante Wirkung auf die Synthese von DOC, OH-P und S und bewirkte einen Abbau des angestauten P (Figur 2a). Keinerlei Effekt zeigte ACTH auf die Corticosteroidbildung aus 4-C¹⁴-Progesteron (Figur 2b). Diese Befunde unterstützten die Annahme anderer Autoren⁹⁻¹¹, dass der Angriffspunkt des ACTH im Synthesebereich zwischen Cholesterin und Pregnenolon liegt.

Die unter Kontrollbedingungen und unter ACTH-Einwirkung erhaltenen Ergebnisse zeigten, dass 21-Desoxypregnene, die in intaktem NNR-Gewebe aus Cholesterin

gebildet wurden, der Corticosteroidbildung nicht ohne weiteres zugänglich sind, und dass ACTH diese möglicherweise in gebundener Form vorliegenden Verbindungen für die nachfolgenden Synthesereaktionen konditioniert. Bei spontanem Ablauf der Synthese (Präkursor 4-C¹⁴-Progesteron) bleibt ACTH ohne Wirkung. Da die relative Hemmung der Corticosteroidformation aus Cholesterin anscheinend nur in intaktem NNR-Gewebe existiert, sollte nach Zerstörung der Gewebestrukturen ebenfalls eine Stimulierung durch ACTH nicht mehr möglich sein. Tatsächlich konnte die in vitro Corticosteroidbiosynthese aus exogenem Cholesterin oder endogenen Präkursoren nach Homogenisierung^{12,13} oder Einfrieren^{14,5} der verwendeten Gewebe nicht mehr stimuliert werden¹⁵.

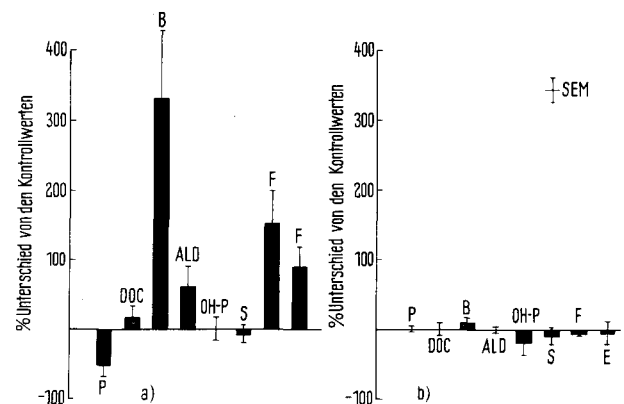


Fig. 2. Effekt von ACTH auf die Inkorporation der Präkursor-Radioaktivität [(a) 4-C¹⁴-Cholesterin; (b) 4-C¹⁴-Progesteron] in die Corticosteroide.

Summary. Impairment of 21-hydroxylation was observed when 4-C¹⁴-cholesterol was transformed into 4-C¹⁴-corticosteroids in slices of bovine adrenal cortex, whereas corticosteroid synthesis from 4-C¹⁴-progesterone proceeded freely. ACTH stimulated corticosteroid formation from 4-C¹⁴-cholesterol but not from 4-C¹⁴-progesterone. It is therefore suggested that ACTH facilitates the «release» of 21-desoxypregnenes, which are present in a «bound» form after synthesis from cholesterol in intact adrenocortical tissue, and which are unavailable for the following reactions without conditioning by ACTH.

D. LOMMER¹⁶ und H. P. WOLFF

II. Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität des Saarlandes, 665 Homburg (Deutschland), 2. Mai 1966.

⁶ D. LOMMER und H. P. WOLFF, Steroids 7, 213 (1966).

⁷ A. CARBALLEIRA und E. H. VENNING, Steroids 4, 329 (1964).

⁸ T. SANDOR, J. LAMOUREUX und A. LANTHIER, Steroids 6, 143 (1965).

⁹ D. STONE und O. HECHTER, Arch. Biochem. Biophys. 51, 457 (1954).

¹⁰ S. LI, Problems' Endokr. Gormonoter 3, 65 (1964).

¹¹ G. C. KARABOYAS und S. B. KORITZ, Biochem. 4, 143 (1965).

¹² E. REICH und A. L. LEHNINGER, Biochim. biophys. Acta 17, 136 (1955).

¹³ F. W. KAHNT und R. NEHER, Helv. chim. Acta 48, 1457 (1965).

¹⁴ R. HAYNES, K. SAVARD und R. I. DORFMAN, J. biol. Chem. 207, 925 (1954).

¹⁵ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Technische Assistenz: E. NERAD. Wir danken Herrn Dr. K. ZENTZ (Städt. Schlacht- und Viehhof Neunkirchen, Saar) für die Bereitstellung frischer Rindernebennieren.

¹⁶ Gegenwärtige Adresse: Syntex Research Institute of Hormon Biology, Stanford Industrial Park, Palo Alto, California, USA.