

the previous experiment (about 1%), probably due to the low specific activity of DNA which demanded a larger amount of DNA to be employed for perfusion. The thymidine- H^3 added is also incorporated into DNA; whereas retention of DNA occurs almost at once, incorporation of thymidine proceeds for 30 min to 1 h, even after the activity in the perfusate had been removed. Furthermore, the chromatographic profile of the newly synthesized DNA is different from the foreign DNA since H^3 activity appears first in fraction 6, and later in fraction 4. As in the previous experiment, no degradation of the exogenous DNA takes place during perfusion.

Only highly polymerized DNA remains intact during liver perfusion. DNA preparations which consist mostly of fractions 2 and 3 are broken down to acid-soluble fraction 1. This is shown in Figure 3, which presents data from a perfusion experiment in which degraded DNA was allowed to circulate through the liver for 1 h. It should be mentioned that in this figure the data are not expressed in terms of total radioactivity but rather of activity/g organ or perfusate.

Discussion and conclusions. The following points appear noteworthy with respect to the experiments described: DNA of high molecular weight and presumably representing native DNA is not degraded in the perfused liver or in the blood. In contrast to this, DNA already degraded in part, is broken down by the liver. Polymerized DNA is readily taken up by perfused liver and is retained even after washing with non-radioactive medium. If more DNA of lower specific activity is used, less is taken up; retention, however, occurs to a similar extent. These

findings suggest that the uptake of DNA by the organ does not represent a simple diffusion from blood into cell but that the DNA is bound in the cell to active sites. The uptake of DNA does not appear to be the result of a re-synthesis of DNA previously degraded. As already mentioned, the polymerized DNA is not degraded and, furthermore, incorporation of low molecular precursors, e.g. thymidine, follows a different pattern with respect to time-course of incorporation and to the chromatographic profile of the DNA formed¹⁰.

Résumé. L'absorption et la dégradation du DNA ont été étudiées dans le foie perfusé in vitro. Alors que les DNA très polymérisés peuvent être absorbés par l'organe et y être retenus (en partie tout au moins), les DNA dégradés sont hydrolysés en composés acido solubles. Les DNA très polymérisés ne sont pas dégradés dans le sang ni dans les organes étudiés.

L. LEDOUX, G. B. GERBER, P. CHARLES,
J. REMY, and J. REMY-DEFRAIGNE

Radiobiology Department, Centre d'Etude de l'Energie
Nucléaire and Euratom, Mol (Belgium),
July 11, 1966.

¹⁰ This work was supported by the contract Euratom/CEN No. 053-64-3 BIAB and from the 'Fonds de la Recherche scientifique fondamentale collective'.

Spezifität der Zinkaufnahme durch Chlorella

Bei unseren Versuchen über die Aufnahme des essentiellen Spurenelements Zink durch *Chlorella pyrenoidosa*^{1,2} wurde zwischen stoffwechselabhängiger («aktiver») und -unabhängiger («passiver») Aufnahme unterschieden. Die passive Aufnahme hängt wenig von den Züchtungsbedingungen der Algen ab. Sie ist bei toten Algen stärker als bei lebenden und wird vorwiegend als Ionenaustausch gedeutet. Die aktive Aufnahme hängt stark von den Züchtungsbedingungen ab und wird durch Entzug von Licht und Sauerstoff sowie durch Dinitrophenol (DNP) gehemmt. Starke aktive Aufnahme zeigten am Ende einer Wachstumsperiode (10–14 Tage nach Beimpfen der Nährlösung im Stehkolben) in 1%iger Glukose gewachsene Algen. Die Nährlösung enthielt neben den üblichen Salzen 4 mM/l Kalzium, aber kein eigens zugesetztes Zink. Der Zinkgehalt solcher Algen, aus Verunreinigungen anderer Salze stammend, betrug laut Aktivierungsanalyse rund 30 ppm im Trockengewicht.

Es sollte nun festgestellt werden, inwieweit die aktive Aufnahme des Zinks spezifisch ist, das Zink also bei aktiver Aufnahme einer Verdrängung durch Fremdionen unterliegt.

Die wie beschrieben gezüchteten Algen wurden dreimal niedertourig zentrifugierend mit destilliertem Wasser gewaschen, wobei aus der Nährlösung ausgefallenes Kalziumphosphat im Waschwasser suspendiert blieb. Dann wurden etwa 50 mg Algen (Frischgewicht) in 10 ml Lösung des Fremdions eingebracht, die auch 10^{-3} mM/l markiertes Zink (^{65}Zn) enthielt. Bei den Hauptversuchen

wurde kein Puffer angewendet; dennoch blieb der auf 5,0 eingestellte pH-Wert innerhalb von $\pm 0,2$ Einheiten konstant.

Vorversuche ergaben, dass die passive Aufnahme nach 10 min abgeschlossen ist, die aktive Aufnahme sich aber über Stunden und Tage erstreckt (Figur 1). Daher wurden Proben einerseits 10 min, andererseits 15 h nach Versuchsbeginn der in diffusen Licht geschüttelten Algen-suspension entnommen. Die Messung erfolgte stets mit Szintillationszähler am algenfreien Überstand. Die Werte für die aktive Aufnahme wurden durch Subtraktion der 10-Minuten-Werte von den 15-Stunden-Werten erhalten.

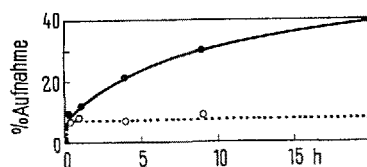


Fig. 1. Aufnahme von markiertem Zink durch *Chlorella*. —●— = ohne DNP, —○— = $5 \cdot 10^{-4} M$ DNP. Ursprüngliche Zn-Konzentration $10^{-6} M$; $n/10$ Natriumacetatpuffer, pH 5,5.

¹ G. R. FINDENEGG und E. BRODA, *Naturwissenschaften* 53, 358 (1966).

² H. KRAUSZ und E. BRODA, *Mh. Chem.* 96, 695 (1965).

In den Proben ohne Fremdion nahmen die Algen in den ersten 10 min 24% und in 15 h 96% des gesamten Zinks auf.

Typische Ergebnisse für die Verdrängung als Funktion der Fremdionkonzentration zeigt Figur 2. Man erkennt, dass sowohl bezüglich der passiven als auch der aktiven Aufnahme inaktives Zink am stärksten wirkt. Doch ist im allgemeinen die Spezifität bei der aktiven Aufnahme viel grösser. Zum Beispiel ist Kadmium bei passiver Aufnahme fast ebenso wirksam wie Zink, während bei der aktiven Aufnahme eine 12mal grössere Konzentration an Kadmium als an Zink nötig ist, um die gleiche Wirkung zu erzielen. Im Falle des Natriums sind die analogen

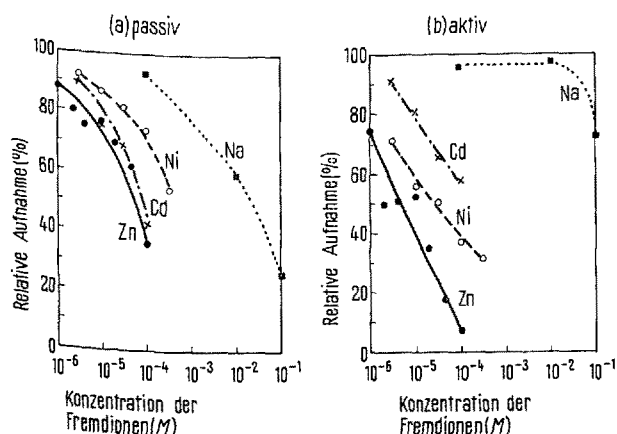


Fig. 2. Radiozinkaufnahme von Chlorella in Abhängigkeit von der Konzentration verschiedener Fremdionen. Bezüglich Unterscheidung zwischen aktiver und passiver Aufnahme siehe Text. Aufnahme in % der Aufnahme durch Proben ohne Fremdion, im Fall der aktiven Aufnahme normalisiert auf gleiche Anfangskonzentration des Zinks in Lösung. Ungepuffert, pH 5,0; ursprüngliche Konzentration des Radiozinks 10^{-6} M.

Konzentrationsverhältnisse 100 bei passiver, aber 10^6 bei aktiver Aufnahme. Die genauen Zahlenwerte sind nicht bei allen Versuchen gleich, hängen also von den Bedingungen ab. Doch kann jedenfalls die folgende Verdrängungsreihe angegeben werden: Passiv, $\text{Zn} > \text{Cd} > \text{Co}, \text{Ni}, \text{Mn} > \text{Ca} > \text{Na}$; Aktiv, $\text{Zn} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Cd} > \text{Mn} > \text{Ca} > \text{Na}$.

In Kontrollversuchen haben wir uns überzeugt, dass die aktive Aufnahme von markiertem Rubidium³ durch Algen durch die Schwermetalle in den verwendeten Konzentrationen nicht vermindert wird, also nicht etwa eine Vergiftung der Algen eintritt. Eine solche Vergiftung ist bei Behandlung mit Kupfer bekannt².

Die beiden Mechanismen für die Aufnahme von Zink durch Chlorella lassen sich also nicht nur durch Beeinflussung des Energiehaushaltes der Algen, sondern auch auf Grund der verschiedenen Geschwindigkeit und der verschiedenen Konkurrenz durch Fremdionen unterscheiden. Dabei zeigt der «aktive» Mechanismus höhere Spezifität als der passive Mechanismus. Versuche über die aktive Aufnahme der Ionen anderer Schwermetalle durch Chlorella sind im Gange⁴.

Summary. The competition of various cations with labelled zinc in the active (metabolic) uptake of the latter by chlorella has been measured. The series obtained does not coincide with that of the passive uptake in the same system, and the specificity is higher in the former case.

E. BRODA und G. R. FINDENEKG

Institut für Physikalische Chemie der Universität Wien (Österreich), 2. August 1966.

³ M. FRIED und R. E. SHAPIRO, A. Rev. Pl. Physiol. 12, 91 (1961).

⁴ Wir danken dem Bundeskanzleramt – Verstaatlichte Unternehmungen (Sektion IV) – der Republik Österreich für finanzielle Unterstützung.

Studies on Potassium Permeability Changes in Human Erythrocytes

The energy needed for the maintenance of unequal K-Na distribution in human erythrocytes is supplied by ATP^{1,2}. In the case that, under the influence of glycolytic inhibitors or of the lack of substrates, the ATP content of the cells is consumed, a K outflow from the cells is started with a simultaneous influx of Na into the erythrocytes³. The rate of this ion transport is relatively slow, 1.5–2.0 mEq/l erythrocytes/h. In certain cases, however – e.g. under the influence of Pb ions⁴, NaF in high concentration⁵ or iodoacetate (IA) + adenosine^{5,6} – a high-rate K outflow (5–20 mEq/l erythrocytes/h) takes place without any equimolar Na influx. In the mechanism of this high-rate K outflow, the metabolism of 2,3-diphosphoglyceric acid has an essential role^{7,8}. In the present paper we shall try to contribute to our knowledge about the metabolic control of the 'passive' K transport.

It is well known that, as a result of the effect of IA + adenosine, a high-rate K outflow from the cells is

started, the extent depending on adenosine concentration^{5,6}. If adenosine is replaced by inosine, the rate of K outflow will decrease; however, if in the presence of inosine an equimolar concentration of NH_4Cl is applied, the same rate of K outflow will be obtained again as in the presence of adenosine⁹. Thus there are 2 factors taking part in bringing about a K permeability change

¹ F. B. STRAUB, Acta physiol. hung. 4, 235 (1953).

² G. GÁRDOS, Acta physiol. hung. 6, 191 (1954).

³ G. GÁRDOS and F. B. STRAUB, Acta physiol. hung. 12, 1 (1957).

⁴ H. PASSOW and K. TILLMANN, Pflügers Arch. ges. Physiol. 262, 23 (1955).

⁵ G. GÁRDOS, Acta physiol. hung. 10, 185 (1956).

⁶ G. GÁRDOS, Folia haemat., Lpz. 77, 138 (1960).

⁷ G. GÁRDOS, Experientia 22, 308 (1966).

⁸ G. GÁRDOS, Acta biochim. biophys. hung. 7, 139 (1966).

⁹ H. PASSOW, in Biochemie des aktiven Transportes, 12. Colloquium der Ges. für physiol. Chemie, Mosbach, Baden (Springer Verlag, Berlin, 1961), p. 54.