

hatten bereits gezeigt, dass die gleichzeitige Anwesenheit von Na^+ und K^+ auf die Enzymaktivität keinen Einfluss hat, eine Na^+ - K^+ -stimulierbare ATPase in der Zytoplasmafraktion mithin nicht nachweisbar ist. Wir prüften nun den Einfluss jedes Kations allein (Tabelle), um eventuell Hinweise auf die Existenz einer Na^+ -stimulierbaren ATPase, wie sie in Hirnmikrosomen nachgewiesen wurde (JÄRNEFELT⁸, VOTH⁴), zu gewinnen. Beide Kationen haben jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Enzymaktivität. Fe^{+++} hemmt die ATPase deutlich (Figur 1). Unter den bivalenten Kationen zeigt Mn^{++} eine sehr starke (Figur 2), Zn^{++} und Co^{++} eine schwächere Hemmwirkung. Mn^{++} erweist sich als wirksamster Hemmer der Mg^{++} -aktivierbaren ATPase, es folgen Zn^{++} , Fe^{+++} und Co^{++} .

Diskussion. Am auffälligsten unter den Befunden ist die starke Hemmwirkung von Mn^{++} . Wie unsere früheren Untersuchungen (VOTH³) zeigten, vermag Mn^{++} das obligate Mg^{++} nicht völlig zu ersetzen. Enthalten Ansätze statt der optimalen Mg^{++} -Konzentration von 5 mM die gleiche Menge Mn^{++} , so wird die ATP-Hydrolyse auf 75% reduziert. Steigern wir in Mg^{++} -Anwesenheit die Mn^{++} -Konzentration, so scheint Mn^{++} das Mg^{++} -Ion zu verdrängen, es kommt zu einer rasch zunehmenden Hemmung der ATP-Spaltung. Zusätzlich spielt die Erhöhung der Ionenstärke eine Rolle.

Monovalente anorganische Kationen zeigen nur in hohen Konzentrationen einen schwachen inhibitorischen Effekt. Dies entspricht dem Verhalten zytoplasmatischer ATPasen auch anderer Gewebe ebenso wie das Fehlen der Na^+ - K^+ -stimulierbaren Enzymaktivität.

Summary. The cytoplasm fraction of the bovine choroid plexus epithelial cells was found to contain a considerable ATPase activity. The influence of Na^+ , K^+ , Li^+ , Rb^+ , Cs^+ , Co^{++} , Mn^{++} , Zn^{++} and Fe^{+++} on the activity of the Mg^{++} -dependent enzyme has been studied. The monovalent cations do not influence the enzymic activity, whereas the effect of the bi- and trivalent cations is characterized by an inhibition of the ATPase.

D. VOTH und M. KOHLHARDT

Neurochirurgische Klinik und II. Medizinische Klinik,
Johannes Gutenberg Universität, 65 Mainz
(Deutschland), 23. Juni 1966.

⁸ J. JÄRNEFELT, Biochim. biophys. Acta 48, 104 (1961).

Actin aus Kalbsherzmuskel

Herzaktive Glykoside beeinflussen nach HORVATH et al.¹ die Polymerisation von g-Actin zu f-Actin. WOLLENBERGER² wies nach, dass der Effekt unspezifisch ist und auch herzinaktiven Glykosiden zukommt. Nach beiden Arbeiten ist das Polymerisationsverhalten präparationsabhängig sehr unterschiedlich. WOLLENBERGER konnte einen Glykosideinfluss nur dann nachweisen, wenn das Actinpräparat aus Herzen stammte, die nach dem Tode der Versuchstiere einige Zeit im Körper liegen geblieben waren.

Neue Untersuchungen haben gezeigt, dass nach älteren Methoden präpariertes Actin inhomogen und häufig mit Tropomyosin kontaminiert ist^{3,4}. Wir untersuchten deshalb, ob auch die Polymerisation von reinem g-Actin durch Glykoside beeinflusst wird, in der Hoffnung, im positiven Falle Aufschluss über den noch unklaren Mechanismus der g-Actin \rightarrow f-Actin Transformation zu erhalten.

g-Actin wurde aus Kalbsherzen rein dargestellt, seine wichtigsten Eigenschaften bestimmt und mit denen von g-Actin aus Muskeln anderer Tierarten verglichen. Daraufhin massen wir Polymerisationsgeschwindigkeit, Viskosität und Thixotropie von Actinlösungen mit und ohne Zusatz von g-Strophantin (Ouabain) und k-Strophantin (Strophosid).

Methode. Die Actinpräparation erfolgte aus frischen Kalbsherzen nach der Methode von KATZ und HALL⁵. Eiweisskonzentrationen wurden mit einer Biuret-methode bestimmt. Viskositäten massen wir mit einem Ubbelohde Kapillarrisikometer, Polymerisationsgeschwindigkeiten und Thixotropiekonstanten mit einem achtstufigen Wells-Brookfield Mikrorotationsviskosimeter. Der Polymerisationsvorgang wurde durch Zugabe von KCl und MgCl_2 (Endkonzentrationen: 0,1 M KCl, 0,001 MgCl_2) gestartet.

Tabelle I. Eigenschaften von Kalbsherzactin

S_o^{20w}	$3,4 \cdot 10^{-13} \text{ sec}$
S_o^{20w} (10^{-3} M EDTA)	$\sim 4,7 \cdot 10^{-18} \text{ sec}$
Grenzviskositätszahl (4°)	0,07 dl g ⁻¹
Myosinbindungsvermögen (Actin:Myosin)	1:4
SH-Gruppen pro Molekül (berechnet auf $M = 60000$)	5,8

Tabelle II. Aminosäureanalyse von Kalbsherzactin (Anzahl Aminosäuren pro Molekül Actin)

Aminosäure	Anzahl	Aminosäure	Anzahl
Cystin	28	Alanin	47
Histidin	7	Cystein	5-6
Arginin	21	Valin	32
Asparaginsäure	56	Methionin	19
Threonin	32	Isoleucin	36
Serin	29	Leucin	43
Glutaminsäure	61	Tyrosin	20
Prolin	26	Phenylalanin	16
Glykokoll	37	Tryptophan	-

¹ I. HORVÁTH, C. KIRALY und J. SZERB, Nature 164, 792 (1949).

² A. WOLLENBERGER, Experientia 10, 311 (1954).

³ A. G. SZENT-GYÖRGYI, J. biol. Chem. 192, 361 (1951).

⁴ W. DRABIKOWSKI und J. GERGELY, in Biochemistry of Muscle Contraction (Ed. J. GERGELY; Little Brown and Company, Boston 1964), p. 125.

⁵ A. M. KATZ und E. J. HALL, Circulation Res. 13, 187 (1963).

Apparente Sedimentationskoeffizienten wurden in der analytischen Ultrazentrifuge Typ Spinco E mit Phasenplatte und Schlierenoptik ermittelt. Für Einzelheiten sei auf eine frühere Arbeit verwiesen⁶. Die Aminosäureanalyse wurde mit einem Beckman Aminoacid-Analyser durchgeführt. Das Myosinbindungsvermögen von f-Actin errechneten wir nach der Ultrazentrifugemethode von JOHNSON und ROWE⁷.

Resultate. Die Eigenschaften von g-Actin aus Kalbsherzen sind in den beiden Tabellen zusammengefasst. Die Abbildung zeigt die Polymerisation einer g-Actin-Lösung mit und ohne Zusatz von Ouabain. In Anwesenheit von Glykosiden polymerisiertes Actin unterschied sich weder in der Viskosität noch in der Thixotropie von normal polymerisiertem Actin.

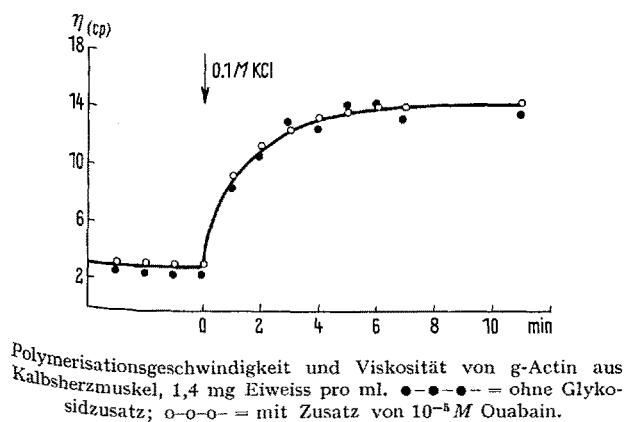
Diskussion. Die Parameter von Kalbsherzactin decken sich innerhalb der zu erwartenden Fehlergrenzen mit Werten aus der Literatur für Actin aus Hundeherzen⁸ und Kaninchenskelettmuskulatur⁹. Wegen den bekannten technischen Schwierigkeiten beim Arbeiten in verdünnten Salzlösungen haben wir keine physiko-chemische Molekulargewichtsbestimmung durchgeführt. Zusatz von

EDTA liess in den Ultrazentrifugenversuchen keinen zweiten Gipfel auftreten. Die Aminosäureanalyse steht in befriedigender Übereinstimmung mit den Werten von CARSTEN und KATZ⁹. Im Gegensatz zu KATZ und HALL⁵ finden wir einen niedrigeren Staudingerindex, wofür zum Teil die verschiedene Messtemperatur verantwortlich sein dürfte. Zur Erklärung der Tatsache, dass wir die Polymerisation von Actin nicht durch Glykoside beeinflussen konnten, bieten sich zwei Möglichkeiten an. Entweder ist der Glykosideffekt auf die Polymerisation durch eine Verunreinigung bedingt, oder aber es muss Actin in ganz spezifischer Weise verändert sein, um das Phänomen zu zeigen. Mit der Klärung dieser Frage sind wir beschäftigt^{10,11}.

Summary. Sedimentation coefficient, intrinsic viscosity, amino acid composition and myosin binding capacity of actin from calf's heart were determined. The results are in fair agreement with values published for actin from other sources. No influence of strophanthidin-g or strophanthidin-k on the velocity of polymerization and the viscosity and thixotropy of f-actin could be detected.

E. JENNY

Pharmakologisches Institut Universität Zürich
(Schweiz), 27. September 1966.



⁶ E. JENNY, *Helv. physiol. Acta* 23, 357 (1965).

⁷ P. JOHNSON und A. J. ROWE, in *Biochemistry of Muscle Contraction* (Ed. J. GERGELY; Little Brown and Company, Boston 1964), p. 279.

⁸ M. S. LEWIS und K. A. PIEZ, *Abstr. 145th Meeting, New York, Am. chem. Soc.*, 1963, p. 57 C.

⁹ M. E. CARSTEN und A. M. KATZ, *Biochem. biophys. Acta* 90, 534 (1964).

¹⁰ Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt 3046) in dankenswerter Weise unterstützt.

¹¹ Herrn PD Dr. R. HUMMEL sei für die Durchführung der Aminosäureanalyse herzlich gedankt.

Differential Effect of Oxidized Glutathione or Acetylphenylhydrazine on Individual Electrophoretic Components of Red Cell Acid Phosphatases

The acid phosphatases of the human red blood cells may be resolved in individual components by starch gel electrophoresis, and 6 of the resulting patterns so far described have been interpreted as the phenotypes expected if 3 co-dominant genes (P^a , P^b , and P^c) allelomorph to an autosomal locus were responsible for their synthesis¹.

In a previous article, we reported that the incubation of an hemolysate with GSSG² modifies the electrophoretic pattern of the red cell acid phosphatases with the appearance of faster anodic fractions, followed by a gradual fading of the pattern and a marked decrease in enzyme activity³. Similar changes may be induced when the whole red blood cell is incubated with APH⁴.

The present report describes a series of experiments suggesting the possibility that the various acid phosphatase components of the normal erythrocyte may be unequally affected by treatment with GSSG or APH. Only erythrocytes from normal subjects were used throughout the present series of experiments. Technical details have been reported elsewhere^{3,4} and are briefly summarized in the legends to the figures.

Experiments on the incubation of hemolysates with GSSG. Hemolysates prepared from A, B or CB individuals and

¹ D. A. HOPKINSON, N. SPENCER, and H. HARRIS, *Nature* 199, 969 (1963).

² The following abbreviations have been used: reduced glutathione = GSH; oxidized glutathione = GSSG; acetylphenylhydrazine = APH; red blood cells = RBC.

³ E. BOTTINI and G. MODIANO, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 17, 260 (1964).

⁴ E. BOTTINI and G. MODIANO, *Experientia* 21, 379 (1965).