

surface. In 23 of the 28 species nerve cell bodies were found in this cardiac nerve. In the 5 in which nerve cells were not located, the failure was probably due to inadequate sampling rather than to the absence of such cells. The Table lists the spiders in which we have found a cardiac nerve. An asterisk indicates those species in which cell bodies were not found. To this list should be added the other 3 species of spiders which have been shown previously to have a cardiac ganglion. These are: *Geolycosa missouriensis* Banks (Lycosidae)², *Heteropoda venatoria* Linnaeus (Sparassidae)¹, and *Scodra calceata* Fabr. (Theraphosidae)⁴.

The spiders examined thus far for the presence of a cardiac ganglion are very few when compared to the total number of spider species. However, the species which have been examined represent nearly $\frac{1}{3}$ of the total number of families of spiders. The universal occurrence of a cardiac ganglion in the families which have been studied indicates that cardiac ganglia must be of widespread occurrence in the Araneae⁶.

Résumé. La présence d'un ganglion cardiaque a été recherchée chez des araignées par une étude histologique.

Dans 11 familles, un ganglion cardiaque a été mis en évidence dans la région dorsale moyenne de la surface externe du cœur. La présence régulière d'un ganglion dans les familles étudiées indique qu'il existe très probablement chez toutes les araignées.

R. G. SHERMAN, C. R. BURSEY,
C. R. FOURTNER and R. A. PAX

Department of Zoology, Michigan State University,
East Lansing (Michigan 48823, USA),
25 November 1968.

¹ R. S. WILSON, J. Insect Physiol. 13, 1309 (1967).

² R. G. SHERMAN and R. A. PAX, Comp. Biochem. Physiol. 26, 529 (1968).

³ R. G. SHERMAN and R. A. PAX, Comp. Biochem. Physiol., in press.

⁴ R. LEGENDRE, C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris 267, 84 (1968).

⁵ After the scheme of B. J. KASTON, State Geological and Natural History Survey, Conn., USA, Bull. No. 70 (1948).

⁶ This work was supported in part by a grant from the National Heart Institute.

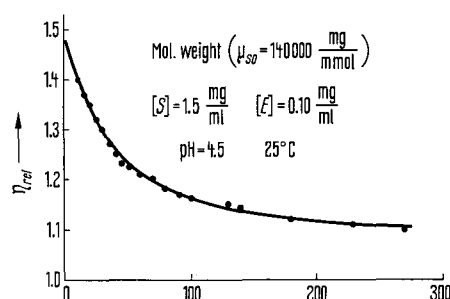
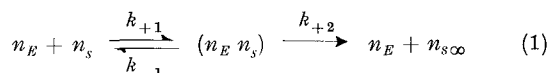
PRO EXPERIMENTIS

A New Method for Determining the Michaelis-Menten Constant Viscometrically for Enzyme Reactions of High-Molecular Substrates

The viscometric method has been successfully applied by many authors for the determination of the catalytic activity of a number of enzymes (amylases, nucleases, proteases, pectinases, hyaluronidases, Cx-cellulases etc.), degrading high-molecular substrates.

In the literature there is a lack of prerequisites and inferences sufficiently backed by arguments for the determination of the kinetic constants of enzyme-substrate reactions in a viscometric way.

In several successive works¹⁻⁴ a theory has been evolved which permits us to trace viscometrically the kinetics of enzyme reactions for high-molecular substrates. The equations thus obtained are applied in the tracing of the degradation kinetics of Sodium carboxymethylcellulose substrate (Na-CMC) under catalytic effect of the Cx-cellulase enzyme (EC 3.2.1.4, β -1,4-glucan-4-glucanohydrolase), which is obtained according to the type of

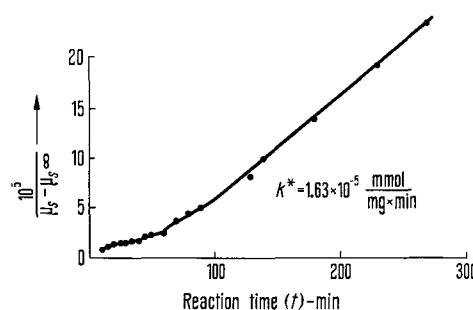
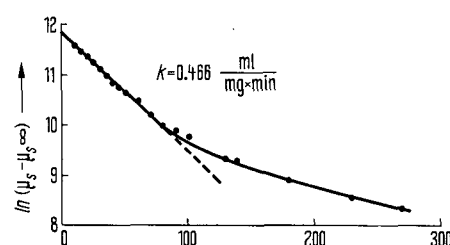


¹ M. L. TSCHETKAROV and D. N. KOLEFF, Mh. Chem. 98, 1908 (1967).

² M. L. TSCHETKAROV, D. N. KOLEFF and S. BANIKOVA, Mh. Chem. 98, 1916 (1967).

³ M. L. TSCHETKAROV and D. N. KOLEFF, unpublished.

⁴ M. L. TSCHETKAROV and D. N. KOLEFF, unpublished.



Change of η_{rel} , $\ln(\mu_s - \mu_{s\infty})$ and $(\mu_s - \mu_{s\infty})^{-1}$ by the reaction time t for a hydrolytic reaction of Na-CMC and enzyme Cx-cellulase.

where $n_E = p [E] N_0 / \mu_E$ and $n_s = [S] N_0 / \mu_s$ are the concentrations of the active sites, respectively the substrate molecules in a unit of volume; μ_E and μ_s , the molecular weights of the enzyme and the substrate; $[E]$ and $[S]$, their weight concentrations; N_0 , the Avogadro number, and p the number of active sites in an enzyme molecule.

The Michaelis-Menten constant (K_m) can be determined from the inferences drawn of the theory set up for the enzyme-substrate reaction of the type of equation (1).

By measuring the relative viscosity $\eta_{rel} = \eta / \eta_0$, depending upon the reaction time (t) under optimal conditions (pH = 4.5; 25°C) by means of the equation^{5,6}

$$\mu_s = \sqrt[n]{\frac{a(\sqrt{\eta_{rel}} - 1)}{K[S]}} \quad (2)$$

is determined the molecular weight μ_s of the substrate degraded (Na-CMC) under the catalytic effect of the enzyme Cx-cellulase (obtained from *Aspergillus oryzae*). In this dependence $K = 0.00158$ and $a = 0.43$ [2], and $n = 8^7$.

The values of μ_s determined in this manner are substituted in the equation [1]

$$\mu_s - \mu_{s\infty} = (\mu_{s0} - \mu_{s\infty}) e^{-k[E]t} \quad (3)$$

which describes the beginning of the enzymic reaction (when $K_m \mu_s \gg [S]$), and the equation [3]

$$\frac{1}{\mu_s - \mu_{s\infty}} = \frac{1}{\mu_{s0} - \mu_{s\infty}} + \frac{k^*[E]}{[S]} t \quad (4)$$

describing the end of the enzymic reaction (when $K_m \mu_s \ll [S]$) in which μ_{s0} and $\mu_{s\infty}$ are the initial and the final molecular weights of the substrate degraded, and

$$k = \frac{p k_{+1} k_{+2} N_0}{(k_{-1} + k_{+2}) \mu_E} \quad k^* = \frac{p k_{+2}}{\mu_E} \quad (5)$$

the 2 constants characterizing the enzymic reaction. In equation (5) k_{+1} , k_{-1} and k_{+2} are the constants defined in equation (1).

From the ratio of the constants in equation (5) can be determined the Michaelis-Menten constant (K_m),

$$K_m = \frac{k^*}{k} = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{N_0 k_{+1}} \quad (6)$$

in molar concentration (mmol/ml).

In the Figure are illustrated the inferences of the theory suggested for the determination of the Michaelis-Menten constant viscometrically. For different molecular weights (μ_{s0}) and substrate concentrations $[S]$ and with different enzyme concentrations $[E]$ in the indicated reaction (1), it will have a value of

$$K_m = \frac{k^*}{k} = 3.6 \times 10^{-5} \text{ mmol/ml} \pm 5.5\%$$

Zusammenfassung. In Übereinstimmung mit der neu entwickelten viskosimetrischen Methode wurde die Michaelis-Menten-Konstante $K_m = 3,6 \times 10^{-5}$ mmol/ml der Hydrolysenreaktion der Natriumcarboxymethylcellulose unter der katalytischen Mitwirkung von Cx-Cellulasen-Enzymen bestimmt.

M. TSCHETKAROV and D. KOLEFF

Faculty of Physics of the University,
Sofia 26, and Biochemical Research Laboratory,
Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia (Bulgaria), 16 September 1968.

⁵ R. HOUWINK, J. prakt. Chem. 157, 15 (1940).

⁶ F. BAKER, J. chem. Soc. 163, 1653 (1913).

⁷ K. HESS and W. PHILIPPOFF, Ber. dt. chem. Ges. 70, 639 (1937).

La place de la scintiphographie dans les études physiopathologiques

Nombre d'études physiopathologiques par les radio-traceurs gagnent en facilité d'interprétation lorsque la localisation et la distribution corporelle du traceur peuvent être connues à tout moment chez l'animal vivant. Nous présentons ici quelques exemples typiques de l'utilisation d'une scinticamera dans des investigations portant sur des problèmes de distribution de traceurs dans diverses situations physiologiques ou pathologiques.

Considérations générales. La scinticamera d'ANGER¹ est essentiellement constituée d'un cristal d'iodure de sodium activé au thallium, d'un diamètre de 11 pouces et d'une épaisseur d'un demi-pouce, couplé à une matrice hexagonale de 19 phototubes. Les scintillations produites dans le cristal sont analysées au double point de vue de l'énergie et de la localisation des photons absorbés. Les impulsions sont visualisées sous forme de points lumineux sur l'écran d'un oscilloscope. Les images instantanées ainsi engendrées sont intégrées pendant un temps prédéterminé en exposant pendant cette période un film photographique. Le document obtenu est une scintiphographie.

La sensibilité d'un tel système est très élevée. En fait, on l'a estimée au triple de celle qu'on obtient avec un collimateur focalisant. Le temps nécessaire à la visualisation d'une source radioactive distribuée dans l'espace

est en conséquence réduit à environ 10% de celui qui est exigé par le système à balayage¹.

La résolution théorique est pratiquement la même que celle des systèmes à balayage. Le raccourcissement du temps de l'examen permet toutefois souvent d'éliminer des causes extrinsèques de perte de résolution, telles que les mouvements respiratoires. La résolution réelle du système peut ainsi être estimée à 1,5 fois celle des systèmes à balayage².

Résultats. (1) Passage transcapillaire des traceurs. Aussi longtemps que la distribution d'un traceur reste purement vasculaire, l'aspect scintigraphique est une reproduction fidèle de l'irrigation sanguine de l'organisme: celui-ci est donc visualisé dans sa totalité avec, en surimpression, l'image du cœur et des gros vaisseaux. Cette image disparaît peu à peu dans la mesure où le traceur franchit la paroi capillaire pour entrer dans l'espace interstitiel. A titre d'exemple, nous avons groupé à la Figure 1 une séquence de scintigraphies réalisées chez le rat après une

¹ H. O. ANGER, Nucleonics 21, 56 (1963).

² A. GOTTSCHALK, Am. J. Roentg. 97, 860 (1966).