

with the enzyme appeared in similar quantities, indicating that oversulfated chondroitin sulfate consisted of such a high quantity of approximately 1/3 of the total chondroitin sulfate isomers. Because chondroitinase-ABC digests chondroitin monosulfates (A, B, C isomers) but does not digest completely oversulfated ones eluted at a high salt concentration, a possible presence of the oversulfated chondroitin sulfate in the undigested AGAG, which include heparin or the related substance, cannot be dismissed.

The aminoanalytical result of the hydrolyzates of the undigested aortic AGAG with chondroitinase-ABC at the 3.0M fraction showed 2 main peaks corresponding to glucosamine and galactosamine moieties. The ratio of the glucosamine to galactosamine was approximately 1:8 which was proportional to the ratio of heparin or its related glucosaminoglycan to chondroitin sulfates when electrophoretically separated. Since no anthrone positive substance appeared in the fraction, the presence of keratan sulfate should be ruled out. Insufficient substance prevented further identification of aortic AGAG, heparin in particular. Nevertheless, the present findings suggest

the occurrence of heparin and/or the related glucosaminoglycan in human aorta, in addition to the major constituents of chondroitin sulfate isomers, including oversulfated ones<sup>17</sup>.

**Zusammenfassung.** Heparin und Glucosaminoglycan wurde in kleinen Mengen in der menschlichen Aorta mit Elektrophorese festgestellt.

K. IZUKA and K. MURATA

*Department of Medicine and Physical Therapy,  
University of Tokyo, Faculty of Medicine,  
Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan, 28 December 1972.*

<sup>17</sup> Acknowledgments. We are grateful to Prof. Y. HORIUCHI for his interest in this study. We are indebted to Dr. K. NAKAZAWA for preparing human aortae and to Miss H. KOJIMA for skilful assistance. The present study was supported by grants in aid for scientific research from the Education Ministry and from Mitsui Life Insurance in Japan.

## Die Abhängigkeit der Magnesium-‘aktivierten Inosin’ Triphosphatase-Aktivität des Aktomyosins von der Ionenstärke

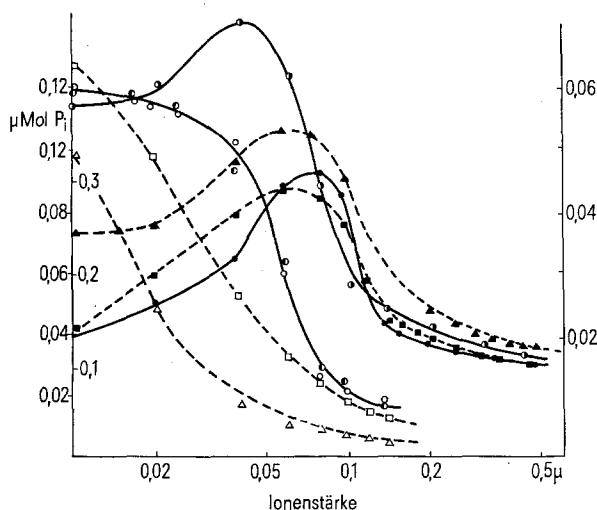
Die kontraktile Aktivität der Myofibrille wird durch den Troponinkomplex reguliert. Dieser steht mit dem Aktin in Wechselwirkung und hemmt bei Calciumionenkonzentrationen unter etwa  $10^{-7}$  M die Aktin-Myosin-Interaktion<sup>1</sup>. Da jedoch der Troponinkomplex nicht direkt mit dem Aktin reagiert und nur auf jedes siebte Aktinmonomer ein Troponinmolekül kommt<sup>2</sup>, müsste deshalb eine indirekte Wirkung des Troponinkomplexes über das Tropomyosinmolekül postuliert werden. Diese An-

nahme scheint auch deshalb plausibel, weil das zwischen den beiden helical umeinandergewundenen Aktindoppelsträngen verlaufende, langgestreckte Tropomyosinmolekül<sup>3,4</sup> bei Aktivierung des Muskels im Filament seine Position<sup>5</sup> ändert. Daher wäre es interessant zu wissen, ob das Tropomyosin B – zumindestens unter bestimmten Versuchsbedingungen – die Aktin-Myosin-Interaktion hemmen kann (vgl. auch SCHAUB<sup>6</sup>).

Eine solche Versuchsbedingung scheint bei der Abhängigkeit der Mg-aktivierten Inosintri-phosphatase Aktivität des Aktomyosin zu bestehen. Es wird daher im Folgenden über Versuche berichtet, die eine Hemmwirkung des Tropomyosin B auf die Interaktion zwischen Aktin und Myosin – gemessen als ITP-ase-Aktivität – zeigen.

**Methodik.** Natürliches Aktomyosin (enthält Troponin-komplex und Tropomyosin B) bzw. «desensibilisiertes Aktomyosin» (enthält weder Troponinkomplex noch Tropomyosin B) wurde nach den Methoden von JENNY<sup>7</sup> bzw. SCHAUB et al.<sup>8,9</sup> präpariert. Tropomyosin B wurde wie bei SCHAUB und PERRY<sup>10</sup> beschrieben präpariert und gelelektrophoretisch geprüft.

Der Ansatz zur NTPase-Aktivitätsbestimmung enthielt 25 mM Tris-HCl (pH 7.6),  $10^{-5}$  M  $\text{Ca}^{++}$ , 2.5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 2.5 mM Adenosintri-phosphat (ATP) oder Inosintri-phosphat (ITP). Die Temperatur war 25°C, die gewünschte Ionenstärke wird mit KCl eingestellt.



Einfluss der Ionenstärke auf die Magnesium-aktivierten NTPase-Aktivitäten von «natürlichem» und «desensibilisiertem» Aktomyosin von Herz- und Skelettmuskel. Testansatz siehe Methodik. ---□---, NAT Herz; ---○---, DAM Herz; —○—, NAT Skelett; —●—, DAM Skelett ATP; —●—, DAM Skelett ITP; offene Symbole, Magnesium-ATP; ausgefüllte Symbole, Magnesium-ITP; NTPase-Aktivität in  $\mu\text{Mol/min/mg}$  Eiweiss. Rechte Ordinate, ATPase- und ITPase-Aktivität des Herzmuskelaktomyosin; Linke Ordinate, ATPase (Innen-seite) und ITPase-Aktivität (Aussenseite) des Skelettmuskelaktomyosins.

<sup>1</sup> E. EBASHI und M. ENDO, Progress Biophys. molec. Biol. 18, 123 (1968).

<sup>2</sup> A. WEBER und R. D. BREMEL, Regulation of contraction and relaxation in the myofibril in Contractility of muscle cells and related processes (Ed. R. J. PODOLSKY; Prentice Hall 1971).

<sup>3</sup> J. HANSON und J. LOWY, J. molec. Biol. 6, 46 (1963).

<sup>4</sup> P. B. MOORE, H. E. HUXLEY und D. J. DE ROSIER, J. molec. Biol. 50, 279 (1971).

<sup>5</sup> J. C. HASELGROVE, Ph. D. Thesis University of Cambridge (1970).

<sup>6</sup> M. C. SCHAUB, Ph. D. Thesis University of Birmingham (1970).

<sup>7</sup> E. JENNY, Helv. physiol. pharmac. Acta 23, 4 (1965).

<sup>8</sup> M. C. SCHAUB, D. J. HARTSHORNE und S. V. PERRY, Biochem. J. 104, 263 (1967).

<sup>9</sup> M. C. SCHAUB und M. ERMINI, Biochem. J. 111, 777 (1969).

Anorganisches Phosphat wurde nach ROCKSTEIN und HERRON<sup>11</sup>, Protein nach STRAUCH<sup>12</sup> bestimmt. Der zeitliche Verlauf der Superpräzipitation und die damit verbundene Turbiditätszunahme wurde bei 550 nm gemessen.

**Resultate.** Die Figur zeigt die Ionenstärkeabhängigkeit der Magnesium-aktivierten ATPase- und ITPase-Aktivitäten von Herz- und Skelettmuskelaktomyosin.

Bei Erhöhen der Ionenstärke über 0.1  $\mu$  fällt die ATPase-Aktivität sehr viel stärker ab als die ITPase-Aktivität. Deshalb ist bei physiologischer Ionenstärke auch die ITPase-Aktivität von Herzmuskelaktomyosin höher als die ATPase-Aktivität (vgl. MUIR et al.<sup>13</sup>).

Bei Ionenstärken unter 0.1  $\mu$  verhalten sich die ITPase- und ATPase-Aktivitäten von Aktomyosin in ihrer Ionenstärkeabhängigkeit völlig verschieden. Die ITPase-Aktivität, die zwischen 0.08 und 0.1  $\mu$  ihr Optimum erreicht, fällt nämlich im Gegensatz zur ATPase-Aktivität nicht nur bei Erhöhung der Ionenstärke (über 0.1  $\mu$ ), sondern auch bei Senken der Ionenstärke (bis etwa 0.03  $\mu$ ). Dieser Aktivitätsabfall bei geringer Ionenstärke ist bei «natürlichem Aktomyosin» (NAM) wesentlich stärker als bei «desensibilisiertem Aktomyosin» (DAM), das von Tropomyosin B und dem Troponinkomplex gereinigt ist.

Wir haben deshalb geprüft, ob Tropomyosin B, das die Magnesium-aktivierte ATPase-Aktivität nicht hemmt<sup>9</sup>, für die biphasische Ionenstärkeabhängigkeit der ITPase-Aktivität verantwortlich ist. Die Magnesium-aktivierte ITPase von DAM kann durch Beimischung von Tropomyosin B um maximal 40% gehemmt werden (halbmaximale Hemmwirkung bei einem Mischverhältnis von 1 Teil Tropomyosin B auf 10 Teile DAM von Skelett-

muskel). Diese Hemmwirkung ist von der Ionenstärke abhängig: Bei sehr kleiner Ionenstärke wird die stärkste Hemmung erreicht, bei Ionenstärken über 0.06  $\mu$  hemmt Tropomyosin B die Magnesium-aktivierte ITPase-Aktivität nicht mehr (siehe Tabelle).

Auch die Superpräzipitation von DAM (des Herzmuskels) mit ITP als Substrat wird durch Beimischung von Tropomyosin B gehemmt, d. h. der Anstieg der Extinktion bis zur Hälfte des Endwertes wurde statt nach 40 sec erst nach 60 sec nach Zugabe von Magnesium-ITP erreicht.

**Folgerung.** Unter bestimmten Versuchsbedingungen konnten wir eine Hemmwirkung des Tropomyosin B auf die Aktin-Myosin-Interaktion nachweisen. Diese Ergebnisse sprechen für die oben erwähnte Hypothese, dass die kontraktile Aktivität der Myofibrille von Herz- und Skelettmuskel durch den Troponinkomplex indirekt über das Tropomyosin B erfolgen könnte.

**Summary.** The ionic strength dependence of the magnesium-activated actomyosin ITPase activity (of heart and skeletal muscle) is distinctly different from that of the magnesium-activated ATPase activity. The former is inhibited by lowering the ionic strength below 0.1  $\mu$ , an effect which can be attributed to an ionic strength dependent inhibitory action of tropomyosin B.

W. A. HÄCKER<sup>14</sup>

*Institut für Zellphysiologie der Ruhr-Universität.*

*Abt. f. Zellphysiologie, Gebäude ND/4.O.G.,*

*D-463 Bochum-Querenburg (Deutschland),*

*12. Dezember 1972.*

Hemmwirkung des Tropomyosin B auf die Magnesium-aktivierte ITPase-Aktivität von DAM<sup>a</sup> Abhängigkeit von der Ionenstärke (ohne Berücksichtigung der Basisionenstärke des Testansatzes)

Tropomyosin B ( $\mu$ g) <sup>b</sup>	50	100	200	300	400	500	600
Ionenstärke 0.00	25	33	40	41	42	43	44
Ionenstärke 0.06	0	0	0	0	0	4	0

<sup>a</sup> In % auf 1 mg Aktomyosin im Testansatz. <sup>b</sup> 100% jeweiliger Testansatz ohne Tropomyosin B.

<sup>10</sup> M. C. SCHAUB und S. V. PERRY, *Biochem. J.* 123, 367 (1971).

<sup>11</sup> M. ROCKSTEIN und P. W. HERRON, *Analyt. Chem.* 23, 1500 (1951).

<sup>12</sup> L. STRAUCH, *Z. klin. Chem.* 3, 165 (1965).

<sup>13</sup> J. R. MUIR, A. WEBER und R. E. OLSON, *Biochem. biophys. Acta* 234, 199 (1971).

<sup>14</sup> Herrn Prof. Dr. J. C. RÜEGG danke ich für viele wertvolle Diskussionen und das kritische Durchlesen des Manuskriptes. Ebenso bin ich Herrn Dr. M. C. SCHAUB für viele hilfreiche Diskussionen und die Mitteilung unveröffentlichter Resultate zu Dank verpflichtet. Fräulein L. MINTERT und meine Frau GERALDINE möchte ich auf Grund der ausgezeichneten technischen Assistenz lobend hervorheben.

## Alarm Pheromone of Grain Aphids

KISLOW and EDWARDS<sup>1</sup> reported that several species of aphids are repelled by the odour of droplets released from their cornicles. We were interested in finding out the structure of the pheromone(s) involved. In a personal communication SIDDALL<sup>2</sup> informed us that the structure

of the alarm pheromone of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer), studied by KISLOW and EDWARDS, is that of  $\beta$ -farnesene. BOWERS et al.<sup>3</sup> identified *trans*- $\beta$ -farnesene as the alarm pheromone of the rose, pea, greenbug and cotton aphids, respectively *Macrosiphum*

Table I. Relative intensities of the 10 most abundant ions in the mass spectra of the alarm pheromone of several species of aphids (parent peak M = 204)

m/e	133	93	81	79	69	67	55	53	41	39
alarm pheromone of:										
<i>Sitobion avenae</i>	19	52	18	19	100	20	20	18	80	17
<i>Rhopalosiphum padi</i>	16	49	18	18	100	19	21	15	85	17
<i>Metopolophium dirhodum</i>	17	50	18	19	100	20	20	14	84	17
<i>Myzus persicae</i>	16	48	17	18	100	19	19	14	82	13
Synthetic $\beta$ -farnesene <sup>4</sup>	17	50	18	19	100	20	20	15	85	16