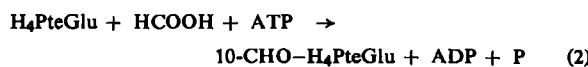
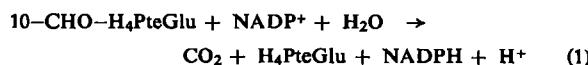


- [1] W. Kaiser u. F. L. Bygrave, European J. Biochem. 4, 582 (1968); W. Stoffel u. H. G. Schiefer, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 349, 1017 (1968).  
 [2] C. Schnaitmann u. J. W. Greenawalt, J. Cell Biol. 38, 158 (1968).  
 [3] B. Kadenbach, Biochim. biophysica Acta 134, 430 (1966).

### Physiologische Bedeutung und Regulation von 10-Formyl-tetrahydrofolat:NADP-Oxidoreduktase

Von C. Kutzbach<sup>[\*]</sup>

Das zuerst in Schweineleber gefundene Enzym 10-Formyl-tetrahydrofolat:NADP-Oxidoreduktase<sup>[1]</sup> katalysiert Reaktion (1). Eine starke Produkthemmung durch Tetrahydrofolsäure erschwert quantitative Tests. Durch Kopplung mit einem Überschuß von Formiat:Tetrahydrofolat-Ligase (E.C.6.3.4.3.) aus *Clostridium cylindrosporum* läßt sich die Hemmung aufheben (Gl. (2)).



PteGlu = Pteroyl-L-glutaminsäure („Folsäure“)

Auf diesem Prinzip wurden ein spektrophotometrischer (NADPH) und ein radioaktiver ( $10\text{-}^{14}\text{CHO}\text{--H}_4\text{PteGlu}$  oder  $^{14}\text{C}$ -Formiat  $\rightarrow$   $^{14}\text{CO}_2$ ) Test aufgebaut, in dem nach Gl. (3) mit einer katalytischen Menge Folate Formiat zu  $\text{CO}_2$  oxidiert wird. In gleicher Weise kann auch die physiologische Formiatoxidation ablaufen; größtenteils gleiche Aktivitäten (1–5 mIE/mg) der Enzyme für Gl. (1) und (2) finden sich im Cytosol von Leber und Niere beim Kaninchen und bei der Ratte. In anderen Organen und in Hühnerleber war die Aktivität geringer oder nicht nachweisbar. In Abwesenheit von  $\text{NADP}^+$  oder in Anwesenheit von 0,1 M Hydroxylamin katalysiert die Oxidoreduktase eine Hydrolyse von 10-Formyl- $\text{H}_4\text{PteGlu}$  zu  $\text{H}_4\text{PteGlu}$  und Formiat mit höchstens 30% der Geschwindigkeit der Oxidation. Dies deutet auf eine aktive Formyl-Verbindung als Zwischenstufe, jedoch konnte kein Formhydroxamat nachgewiesen werden.

Die  $K_m$ -Werte betragen 3,5  $\mu\text{M}$  für NADP und 8,2  $\mu\text{M}$  für  $(-)$ -10-CHO- $\text{H}_4\text{PteGlu}$ . Mit der nur zu 50% umgesetzten  $(\pm)$ -Mischung ergaben sich die gleichen Werte und gleiche  $V_{max}$ : Die inaktive  $(+)$ -Form verursacht also keine Hemmung. Dagegen hemmen beide Isomeren des Produktes stark, so daß die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Verwendung von  $(\pm)$ - $\text{H}_4\text{PteGlu}$  statt  $\text{CHO}\text{--H}_4\text{PteGlu}$  im gekoppelten Test nur ca. 30% beträgt. Die Hemmkonstanten ( $K_i$ ) wurden größtenteils zu 12  $\mu\text{M}$  [ $(+)$ -Form] und 0,5  $\mu\text{M}$  [ $(-)$ -Form] erhalten. Der Hemmtyp ist näherungsweise, jedoch nicht strikt, kompetitiv. Die Hemmung ist spezifisch für  $\text{H}_4\text{PteGlu}$ : 5-CHO- $\text{H}_4\text{PteGlu}$ , 5-CH<sub>3</sub>- $\text{H}_4\text{PteGlu}$ , Folsäure, Aminopterin und hydriertes Aminopterin zeigten keine Hemmung bis 5·10<sup>-4</sup> M. Die starke und spezifische Produkthemmung spricht für eine Regulation der Gewebskonzentration an unsubstituierter Tetrahydrofolsäure durch dieses Enzym.

[\*] Dr. C. Kutzbach  
Max-Planck-Institut für Ernährungsphysiologie  
46 Dortmund, Rheinlanddamm 201

[1] C. Kutzbach u. E. L. R. Stokstad, Biochem. biophys. Res. Commun. 30, 111 (1968).

### Transport von Doppel- und Tripelsträngen der Ribopolynucleotidreihe durch Zellmembranen

Von P. L. Schell<sup>[\*]</sup>

Im Anschluß an frühere Arbeiten, in denen die Aufnahme von homologer, radioaktiver RNS durch Ehrlich-Ascites-Tumorzellen beschrieben wurde, konnte jetzt gezeigt werden, daß Poly-A-U und PolyA-U<sub>2</sub>, beide doppelt markiert, stärker von den Zellen aufgenommen werden als RNS oder Poly-A oder Poly-U allein. Die Zellen wurden in Suspension mit Hanks Medium inkubiert, welches das entsprechende Polynucleotid enthielt. Sie wurden dann von anhaftendem Medium befreit und die Radioaktivität entweder in den Zellen oder im zurückgewonnenen Polynucleotid gemessen. Auffallend ist, daß diese Einschleusung schon bei 0 °C ca. 50% der Maximalaufnahme erreichen kann, daß das Eindringen anfänglich sehr rasch vorstatten geht und daß die Kurve nach 30 min ein Plateau bildet. Dabei bleibt das Verhältnis 1:1 der beiden Partner beim Doppelstrang und 1:2 beim Tripelstrang konstant.

Das hochmolekulare Material konnte nicht vor oder während des Eindringens abgebaut werden und in Form von kleinen Bruchstücken in die Zelle gelangt sein, denn das Material läßt sich mit Phenol aus den Zellen extrahieren und läuft auf einer Sephadexsäule G 150 in gleicher Weise wie das Vergleichsmaterial. Die Inkorporation von markierten Bruchstücken in zelleigene RNS wird durch Actinomycin gehemmt. Diese Möglichkeit wurde durch Zugabe von <sup>14</sup>C-AMP simuliert. Neben eingeschleusten <sup>3</sup>H-Poly-A-U<sub>2</sub> wurde kaum [<sup>14</sup>C-A]-markierte RNS gefunden. Das Vorhandensein eines definierten Doppel- oder Tripelstranges ist für die erleichterte Aufnahme notwendig. Nach der Methode der kontinuierlichen Variation der Konzentrationen von Poly-A und Poly-U wurden mehrere Medien hergestellt. Die Aufnahme eines jeden Partners durch die Zellen aus diesen Medien ist maximal, wenn das Verhältnis A:U gleich 1:2 ist. Der Verlust der Hyperchromizität, d.h. der Fähigkeit zur Bildung von H-Brücken durch schrittweise N-Oxidation des Poly-A, führt parallel auch zur Verringerung der Aufnahme. Eine Trennung in die Einzelstränge während des Eindringens in die Zellmembran findet nicht statt. Wenn nämlich während der Einschleusung von Poly-[<sup>14</sup>C-A]-[<sup>3</sup>H-U<sub>2</sub>] jeweils ein molarer Überschuß von nicht markiertem Poly-A, Poly-U oder Poly-A-U zugegeben würde, dann hätte jede – auch reversible – Dissoziation des Tripelstranges eine Isotopverdünnung des jeweiligen Partners zur Folge gehabt, eine Errscheinung, die in unseren Versuchen nicht beobachtet wurde.

[\*] Dr. P. L. Schell  
Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin  
34 Göttingen, Hermann-Rein-Straße 3

### Über den Angriffspunkt des Cortisols im Zellkern

Von M. Beato, J. Homoki und C. E. Sekeris (Vortr.)<sup>[\*]</sup>

Die parenterale Zufuhr von Cortisol führt in den Leberzellkernen der Ratten zu einer raschen Stimulierung der RNS-Polymeraseaktivität und zu einer Erhöhung der Matrizenaktivität des Chromatins für die RNS-Synthese. Die gleichen Effekte konnten wir nach der Inkubation von Cortisol mit Leberzellkernen beobachten. Daraus schließen wir, daß der primäre Angriffspunkt des Hormons in den Zellkernen zu suchen ist. Um diesen Angriffspunkt näher zu lokalisieren, haben wir die Vorgänge bei der Erhöhung der Matrizenaktivität des Chromatins *in vitro* studiert. Chromatin besteht hauptsächlich aus DNS, RNS und Protein. Da <sup>3</sup>H-Cortisol ausschließlich an Kernprotein gebunden wird, haben wir *in vitro* den Einfluß des Hormons auf die Kernproteine untersucht.

[\*] Dr. M. Beato, Dr. J. Homoki und Doz. Dr. C. E. Sekeris  
Institut für Physiologische Chemie der Universität  
355 Marburg, Lahnberge