

Résumé

Des souris et des rats femelles ayant mis bas en présence d'un mâle et allaitant 6 petits sont castrées le 6^e jour de la nouvelle gravidité. On leur donne une injection journalière de progestérone (0,1 à 10 mg) pour maintenir les blastocystes en survie et le 7^e, 10^e ou 15^e jour, une injection de 0,5 γ de folliculine pour provoquer l'ovulation. La progestérone, même en hautes doses, ne permet jamais la réalisation de l'implantation, tandis que la folliculine la provoque, de fait que les femelles gravides ont des germes récemment implantés trois jours après l'injection d'ovocycline, c'est-à-dire le 10^e, 13^e ou 18^e jour de la gravidité (Fig. 1).

Nous concluons de ces expériences que le retard de la nidation pendant la lactation est dû au manque d'hormone folliculaire, ce qui est démontré aussi par l'histologie des ovaires avant et après la nidation (Fig. 2 et 3).

Bestimmung von Glykolyse-Metaboliten in isolierten Zellkernen*

Die Aufteilung bestimmter Stoffwechselprozesse auf die einzelnen Strukturelemente der Zelle ist in den letzten Jahren vielfach bearbeitet worden (Übersichten bei ¹). Fast stets hat man sich aber mit der Aktivitätsbestimmung der in Frage stehenden Enzyme begnügt und stillschweigend angenommen, dass der Nachweis einer Enzymaktivität als solcher bereits etwas über das tatsächliche Vorkommen der von diesen Enzymen katalysierten Stoffwechselprozesse in den betreffenden Zellpartikeln aussage. Schon verschiedentlich, und zum Teil vor längerer Zeit ², ist hingegen diskutiert worden, ob im Zellkern vorhandene Enzyme dort auch die entsprechenden Substrate vorfinden oder ob man nach anderen Deutungsmöglichkeiten für das Vorkommen von Enzymen im Zellkern suchen muss.

Zur Klärung dieser Frage wurden Bestimmungen von Zwischensubstraten der Glykolyse mittels enzymatischer Methoden vorgenommen.

Methodik. Ausgewachsenen Ratten wurde in Äthernarkose die Bauchhöhle eröffnet und durch Aufpressen von in flüssiger Luft gekühlten Metallgeräten die Leber *in situ* eingefroren. Durch dieses Vorgehen ³ werden alle Stoffwechselprozesse momentan sistiert. Nach Gefrier-trocknung wurden aus dem Leberpulver nach dem Behrenschen Prinzip ⁴ Zellkerne isoliert. Die Zellfraktionen wurden in der Kälte mit HClO₄ enteiwesst, HClO₄ als KClO₄ entfernt und die klaren Extrakte zu den enzymatischen Analysen ⁵ eingesetzt. Folgende Zellfraktionen wurden verglichen: A Rattenleber-Gefriertrockenpulver, nach Zerreiben vom Bindegewebe abgesiebt; B wie A, aber mit den zur Zellkernisolierung benutzten Lösungsmitteln (Petroläther, Zyklohexan, Tetrachlorkohlen-

stoff) erschöpfend extrahiert; C aus A nach ⁴ dargestellte Zellkerne.

Substratkonzentration in isolierten Rattenleber-Zellkernen
[Werte als μM ($10^{-6} \mu M$)/g Trockenpulver]

	Zellfraktion (siehe Text)		
	A	B	C
Dihydroxyacetonphosphat	(9)	(10)	(6)
Fructose-1,6-diphosphat	265	330	320
Pyruvat	83	91	145
Phosphoenolpyruvat	121	174	114
Malat	1090	1040	770
α -Glycerophosphat	2090	2140	2710
Lactat	7340	8940	13200
3-Phosphoglycerat	610	520	440
Adenosintriphosphat	2160	2240	2460
Adenosindiphosphat	6400	6150	4050
Adenosinmonophosphat	5090	5610	4850
Σ der 3 Adeninnukleotide	13650	14000	11350
Glucose-6-phosphat			3930

Die Ergebnisse der enzymatisch-analytischen Tests sind in der Tabelle wiedergegeben. Man ersieht aus diesen Daten, dass alle untersuchten Substrate auch in Zellkernen in einer dem Gesamtgewebe vergleichbaren, wenn auch gelegentlich etwas abweichenden Konzentration vorhanden sind. Anders als bei den normalerweise gefundenen Werten für Rattenleber ³ sind die Quotienten Lactat: Pyruvat und auch diejenigen der 3 Adeninnukleotide in Richtung auf anaerobe Verhältnisse verschoben, so dass die Werte der Tabelle nicht als Absolutwerte für Rattenleber gewertet werden können; untereinander sind die Werte für die einzelnen Zellfraktionen aber voll vergleichbar, und daher ist der Schluss gerechtfertigt, dass in Zellkernen nicht nur alle glykolytischen Enzyme ⁶, sondern auch deren Substrate in einer Konzentration vorhanden sind, die ein tatsächliches Ablaufen der glykolytischen Prozesse in Zellkernen gestattet. Nach Meinung des Verfassers dürften jetzt praktisch keine Zweifel mehr bestehen, dass auch der isolierte Zellkern zur Glykolyse befähigt ist und dass zumindest auf diesem Wege eine intranukleäre ATP-Bildung erfolgen kann.

Der Verfasser dankt Herrn Prof. Dr. Th. BÜCHER, Physiologisch-chemisches Institut der Universität Marburg, für die ausgezeichnete Gastfreundschaft und Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut. Die Untersuchungen wurden durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

G. SIEBERT

Physiologisch-chemisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz, den 3. August 1958.

Summary

Isolated rat liver nuclei have been analyzed for the intranuclear concentration of 8 glycolytic metabolites, and in addition for the 3 adenine nucleotides, and for malate. All these substrates are to be found in nuclei in a range of concentration comparable to that in the whole tissue. The consequences of these findings with respect to the definite establishment of glycolysis in isolated nuclei, as well as for the intranuclear formation of energy-rich phosphate bonds, are discussed.

* G. SIEBERT, Vortrag 9. Mosbacher Symposium 1958 (im Druck).

* Meinem Lehrer, Prof. Dr. Dr. K. LANG, in aller Verehrung und Dankbarkeit zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹ G. SIEBERT und R. M. S. SMELLIE, *Int. Rev. Cytol.* 6, 383 (1957). – G. H. HOGEBOOM, E. L. KUFF und W. C. SCHNEIDER, *Int. Rev. Cytol.* 6, 425 (1957).

² K. LANG und G. SIEBERT, *Biochem. Z.* 322, 196 (1951/52).

³ Th. BÜCHER, Persönliche Mitteilung.

⁴ K. LANG und G. SIEBERT, in HOPPE-SEYLER/THIERFELDERS Handbuch, 10. Aufl., Bd. 2 (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955), S. 537.

⁵ H. J. HOHORST, *Biochem. Z.* 328, 509 (1957).