

Reviews of

703953

Physiology Biochemistry and Pharmacology

73 formerly
Ergebnisse der Physiologie, biologischen
Chemie und experimentellen Pharmakologie

W. Hasselbach
Hans Hermann Weber, 1896–1974

E. de Robertis
Synaptic Receptor Proteins. Isolation and
Reconstitution in Artificial Membranes

A. Melander, L. E. Ericson, F. Sundler, and
U. Westgren
Intrathyroidal Amines in the Regulation of
Thyroid Activity

J. Haase, S. Cleveland, and H.-G. Ross
Problems of Postsynaptic Autogenous and
Recurrent Inhibition in the Mammalian Spinal Cord

I. S. Kulaev
Biochemistry of Inorganic Polyphosphates



Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York

73 Reviews of
Physiology,
Biochemistry and
Pharmacology

formerly

Ergebnisse der Physiologie, biologischen
Chemie und experimentellen Pharmakologie

Editors

R. H. Adrian, Cambridge · E. Helmreich, Würzburg
H. Holzer, Freiburg · R. Jung, Freiburg
K. Kramer, München · O. Kraye, Boston
R. J. Linden, Leeds · F. Lynen, München
P. A. Miescher, Genève · J. Piiper, Göttingen
H. Rasmussen, Philadelphia · A. E. Renold, Genève
U. Trendelenburg, Würzburg · K. Ullrich, Frankfurt/M.
W. Vogt, Göttingen · A. Weber, Philadelphia

With 49 Figures

Springer-Verlag
Berlin · Heidelberg · New York 1975

ISBN 3-540-07357-4 Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York
ISBN 0-387-07357-4 Springer-Verlag New York Heidelberg Berlin

This work is subject to copyright. All rights are reserved, whether the whole or part of the material is concerned specifically those of translation, reprinting, re-use of illustrations, broadcasting, reproduction by photocopying machine or similar means, and storage in data banks.

Under § 54 of the German Copyright Law where copies are made for other than private use, a fee is payable to the publisher, the amount of the fee to be determined by agreement with the publisher.

© by Springer-Verlag Berlin · Heidelberg 1975. Library of Congress-Catalog-Card Number 74-3674.
Printed in Germany.

The use of registered names, trademarks, etc. in this publication does not imply, even in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protective laws and regulations and therefore free for general use.

Typesetting, Printing and Binding: Universitätsdruckerei H. Stürtz AG, Würzburg

List of Contributors

- CLEVELAND, S., Dr., Physiologisches Institut der Universität,
Düsseldorf/Federal Republic of Germany
- ERICSON, L. E., Dr., Department of Anatomy, University of Göteborg,
Göteborg/Sweden
- HAASE, J., Prof. Dr., Physiologisches Institut der Universität,
Düsseldorf/Federal Republic of Germany
- HASSELBACH, W., Prof. Dr., Max-Planck-Institut für Medizinische
Forschung, Heidelberg/Federal Republic of Germany
- KULAEV, I. S., Prof. Dr., Department of Plant Biochemistry of
Moscow State University, Moscow/USSR
- MELANDER, A., Dr., Farmakologiska Institutionen, Lunds
Universitet, Lund/Sweden
- DE ROBERTIS, E., Prof. Dr., Director del Instituto de Anatomie
General y Embriologia, Facultad de Medicina, Universidad de
Buenos Aires, Buenos Aires/Argentina
- ROSS, H.-G., Dr., Physiologisches Institut der Universität,
Düsseldorf/Federal Republic of Germany
- SUNDLER, F., Dr., Department of Histology, Institute of Anatomy
and Histology, University of Lund, Lund/Sweden
- WESTGREN, U., Dr., Department of Pharmacology, University of
Lund, Lund/Sweden

Contents

HANS HERMANN WEBER, 1896–1974. By W. HASSELBACH, Heidelberg/Federal Republic of Germany. With 1 Portrait	1
Synaptic Receptor Proteins. Isolation and Reconstitution in Artificial Membranes. By E. DE ROBERTIS, Buenos Aires/Argentina. With 15 Figures	9
Intrathyroidal Amines in the Regulation of Thyroid Activity. By A. MELANDER, Lund/Sweden, L. E. ERICSON, Göteborg/Sweden, F. SUNDLER, Lund/Sweden and U. WESTGREN, Lund/Sweden. With 13 Figures	39
Problems of Postsynaptic Autogenous and Recurrent Inhibition in the Mammalian Spinal Cord. By J. HAASE, S. CLEVELAND, and H.-G. ROSS, Düsseldorf/Federal Republic of Germany. With 9 Figures	73
Biochemistry of Inorganic Polyphosphates. By I. S. KULAEV, Moscow/USSR. With 11 Figures	131
Indexed in Current Contents	

Hans Hermann Weber, 1896—1974

W. HASSELBACH

„Unser Jahrhundert wird wahrscheinlich einmal in der Kulturgeschichte als das Jahrhundert der Physik und der Biologie bezeichnet werden.“ Diesen Satz schrieb HANS HERMANN WEBER in der Einleitung zu einem Nachruf für seinen Lehrer OTTO MEYERHOF.

In der Biologie erfolgte der große Durchbruch von der rein statischen Beschreibung der Phänomene und Stoffe durch die Anwendung physikalischer und chemischer Prinzipien und Methoden auf die Probleme der Energieumwandlung in Zellen und Geweben. OTTO WARBURG, OTTO MEYERHOF und ihre Schüler haben dieser Entwicklung, die in die moderne Biochemie und Biophysik einmündete, den Weg bereitet. Der wissenschaftliche Aufbruch vollzog sich in den 20er Jahren in Deutschland trotz wirtschaftlicher Not und politischer Unsicherheit. Daß unter solchen Bedingungen wissenschaftliche Arbeit überhaupt möglich war und auf vielen Gebieten hervorragende Leistungen erbracht wurden, müssen wir mit Hochachtung feststellen. Die Entwicklung endete im nationalsozialistischen Deutschland durch Verfolgung und Krieg.

Heute, nach 30 Jahren des Friedens, haben wir fast schon vergessen, wie groß nach der Katastrophe von 1945 die geistigen und materiellen Verwüstungen waren. H. H. WEBER hat wesentlich dazu beigetragen, daß die deutsche Physiologie und Biochemie wieder Anschluß an die internationale Entwicklung fanden.

Wenige Tage vor seinem 78. Geburtstag haben wir H. H. WEBER in Heidelberg zu Grab getragen. Bis zuletzt von zäher Vitalität und ungebrochener Ausdauer hat ihn der Tod am 12. Juni 1974 überrascht. Noch einige Tage zuvor diskutierte er über ein wissenschaftliches Problem und ventilierte systematisch alle nur möglich erscheinenden Aspekte — so, wie nur er es konnte — als stünde die Zeit still. Sein unvermindertes Interesse an Problemen der Forschung, der wissenschaftlichen und politischen Entwicklung in unserem Land und in der Welt schien ihn jung zu erhalten.

WEBERS Stellung zur deutschen Physiologie und physiologischen Chemie war gekennzeichnet durch eine gewisse Ambivalenz. Im Gegensatz zu angelsächsischen Wissenschaftlern zeigten deutsche Physiologen und physiologische Chemiker kein besonderes Verständnis für sein wissenschaftliches Vorgehen, das heute der molekularen Physiologie zuzuordnen ist. Das hohe internationale Ansehen, das er nach dem 2. Weltkrieg in der Welt fand, hat ihm schließlich auch in Deutschland Anerkennung gebracht. Kongresse, die er nicht häufig besuchte, wurden durch seine Diskussionsbemerkungen zu Ereignissen besonderer Art. Auch in Beiträgen, die ihm von der Sache her fremd waren, spürte er die leisesten Widersprüche auf

und ruhte nicht eher, bis sie festgestellt oder aufgelöst waren. War der Kontrahent ebenso hartnäckig wie der Frager, entwickelten sich lange Wortgefechte, die jedes Programm zu sprengen drohten. Diese intellektuelle Hartnäckigkeit, die auf Widerspruchsfreiheit zielte, brachte ihm den Ruf des Schwierigen und Unbequemen ein. Mit der gleichen Hartnäckigkeit mußten sich auch seine Freunde und Schüler auseinandersetzen. Nur selten erfaßte ihn in solchen Disputen die Emotion, und immer war er bereit, sich dem besseren Argument zu beugen. Dasselbe dialektische Prinzip verfolgte er in seinen Vorlesungen. Es ging ihm in der Hauptsache darum zu zeigen, wie der menschliche Geist der Natur Erkenntnisse abgerungen hat. Wer dem Spiel seiner Argumente und Fragen folgte, konnte mit relativ wenig Wissen ein gutes Examen ablegen. Seine Vorträge und Reden fesselten Laien und Experten durch ihre Anschaulichkeit und Klarheit. Zu Anschaulichkeit und Klarheit drängte er auch die Autoren, deren Beiträge er als Mitherausgeber der Ergebnisse der Physiologie, der *Biochimica et Biophysica Acta* und der Zeitschrift für vergleichende Physiologie kritisch kommentierte. Entspannung suchte er im Klavierspiel, vor allem aber in der Arbeit in seinem Garten. Für ihn war die Anlage eines Gartens auch ein ästhetisches Problem.

HANS HERMANN WEBER wurde am 17. Juni 1896 in Berlin geboren. Sein Vater, HERMANN WEBER, Internist, Geheimer Rat und Professor, war ein erfolgreicher Vertreter seines Faches, die Mutter, ANNEMARIE geb. BECHER, brachte die künstlerische Begabung in die Familie. H. H. WEBER besuchte das humanistische Gymnasium in Charlottenburg bis zum Kriegsausbruch 1914. 1916 verwundet, begann er das Medizinstudium entgegen allen Erwartungen der Familie, die an eine Laufbahn als Maler oder Bildhauer dachte. Nach Kriegsende studierte er in Greifswald, Rostock und Heidelberg; das Staatsexamen und das Doktorexamen legte er 1921 in Rostock ab. Sein Doktorvater war HANS WINTERSTEIN. In Fortsetzung eigener Studien aus dem Jahr 1916 ließ er WEBER über „Die Rolle der Milchsäure bei der Bildung und Lösung der Muskelstarre“ arbeiten. WEBER hat WINTERSTEIN tief verehrt; er schätzte sein profundes Wissen und seine durchdringende Intelligenz. Für WEBER war WINTERSTEIN das Vorbild des akademischen Lehrers. 1922 ging WEBER für ein halbes Jahr zu OTTO MEYERHOF nach Kiel, der dort als Assistent bei RUDOLF HÖBER arbeitete. WEBER erzählte oft, wie MEYERHOF ihn als Anfänger schließlich unter großem Vorbehalt akzeptierte, natürlich nur als unbezahlten Assistenten. MEYERHOF trug ihm – von WARBURG angeregt – an, Oxydationsvorgänge am „Kohlemodell“ zu studieren. Obgleich diese Arbeit sich als ein nur wenig zukunftsträchtiges Thema erwies, hat ihn dieser Aufenthalt in MEYERHOFs Laboratorium sehr beeindruckt und wissenschaftlich geprägt. Er kehrte zu WINTERSTEIN nach Rostock zurück und begann, sich mit den Grundlagen der Meyerhofschon Entionisierungstheorie der Muskelkontraktion auseinanderzusetzen. Hier heiratete er MARGA OLTMANNs, die ihn bewunderte und ihm eine kritische Ratgeberin war. Sie übersetzte seine Arbeiten und Vorträge mit großer Akribie ins Englische, das er sich als Humanist erst spät aneignete.

Nach der Habilitation 1925 ging WEBER nach Berlin ans Pathologische Institut zu PETER RONA. In der anregenden Atmosphäre dieser Zeit haben ihn FRITZ HABER, LEONOR MICHAELIS und OTTO WARBURG nachhaltig beeinflußt. Er traf hier DAVID NACHMANSOHN, KURT HANS MEYER und HANS ADOLF KREBS, deren Freund und Kritiker er war. 1927 fand er im Institut für Physiologie und physio-

logische Chemie in Münster bei R. ROSEMANN eine Assistentenstelle. Von 1933 an verwaltete er den abgezweigten Lehrstuhl für physiologische Chemie. Seine endgültige Ernennung durch das Kultusministerium in Berlin blieb jedoch aus, weil er in Münster als politisch nicht zuverlässig galt. Am 1. 4. 1939 folgte er schließlich einem Ruf nach Königsberg auf den Lehrstuhl für Physiologie und physiologische Chemie. Es gelang noch, im zweiten Kriegsjahr das Institut zu teilen und ROBERT AMMON auf den Lehrstuhl für physiologische Chemie zu berufen. Kurz bevor Königsberg eingeschlossen wurde, konnte WEBER mit Hilfe eines „Forschungsauftrages“ zur Gewinnung von Blutkonserven die Stadt verlassen. In Tübingen fand er dann eine neue Wirkungsstätte. Hier herrschte eine für die damalige Zeit exzeptionelle wissenschaftliche Atmosphäre. Mehrere Berliner Kaiser Wilhelm-Institute hatten sich nach Tübingen oder in seine Umgebung geflüchtet. In Tübingen erneuerte WEBER seine Zusammenarbeit mit GERHARD SCHRAMM und schloß enge Freundschaft mit GEORG MELCHERS. Als Dekan der medizinischen Fakultät engagierte er sich für wichtige Belange der Universität. Große wissenschaftliche Ereignisse in den ersten Nachkriegsjahren waren zwei Besuche amerikanischer Wissenschaftsdelegationen unter der Leitung von OTTO KRAYER (1948) und ERWIN STRAUS (1952), die von der unitarischen Kirche Amerikas finanziert wurden. Die amerikanischen Unitarier bemühten sich, den unterbrochenen wissenschaftlichen Kontakt zwischen Amerika und Europa wiederherzustellen, indem sie renommierte amerikanische Wissenschaftler zu Vorträgen nach Europa schickten. WEBER koordinierte diese Aktionen in Tübingen. In Anerkennung der Ergebnisse seiner neuen Arbeiten, die mit einfachsten Mitteln zustande gekommen waren, überreichte ihm 1952 der Leiter der Delegation einen Scheck über 10000 Dollar. Bei einem Jahresetat des Institutes von 10000 DM konnten damit die drückendsten Mängel behoben werden.

Ende 1953 erhielt H. H. WEBER den Ruf an das Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg. Sein Vorgänger, HERMANN REIN, der das Institut erst 1952 übernommen hatte, war einer tückischen Krankheit erlegen. Mit der Annahme des Rufes nach Heidelberg hatte sich in WEBERS Leben ein Kreis geschlossen: er übernahm das Institut, dessen erster Direktor sein verehrter Lehrer OTTO MEYERHOF gewesen war. Er war sich dieser Tradition immer bewußt. Ausdruck seiner Bewunderung und Verehrung für MEYERHOF war seine Rede zur Eröffnung des Meyerhof-Symposium 1970 in Heidelberg.

In der Max-Planck-Gesellschaft nahm WEBER seine Verantwortung als Mitglied dieser Gesellschaft außerordentlich ernst. Er hat wohl kaum eine Sitzung ihrer Sektion versäumt. In zahlreichen Kommissionen hat WEBER der Max-Planck-Gesellschaft sein nicht immer bequemes Urteil geliehen. Er hat viele Entwicklungen – wie die der chemischen Biologie – mit großem Einsatz gefördert und anderen entgegengewirkt. Noch als Emeritus – 1967 – hat er die medizinisch-naturwissenschaftliche Sektion geleitet.

In Heidelberg hat sich WEBERS wissenschaftliches Werk vollendet, an dem er über 40 Jahre konsequent gearbeitet hat. Drei Perioden kennzeichnen seine wissenschaftliche Produktivität. Der Periode des Myogens folgten die Studien des Myosins und diese wurden abgelöst durch die Analyse der Wechselwirkungen des ATP mit dem Aktomyosin. Nach der kurzen Zusammenarbeit mit MEYERHOF

1922 konzentrierte WEBER sich ganz auf das Studium des wasserlöslichen Proteins des Muskels, des Myogens, das man damals für ein Protein *sui generis* hielt. Er benutzte das Myogen als Modellsubstanz, an welcher er die Voraussetzung, die ein Muskeleiweiß, in dem chemische Energie in mechanische Spannung umgesetzt wird, erfüllen muß, analysieren wollte. „Da der Vorgang wegen seiner großen Geschwindigkeit einer physikochemischen Untersuchung nicht zugänglich ist, ist man auf Kombinationen angewiesen, deren Grundlage eine systematische Kenntnis nicht nur der energetischen Vorgänge, sondern auch der physikalisch-chemischen Verhältnisse der Muskelgrundsubstanz ist.“ Solche Erkenntnisse beizutragen, war der Zweck der ersten und der folgenden Arbeiten. Sein Ziel war es, die physikochemischen Grundlagen für die Meyerhofsche Muskelenergetik zu schaffen. Die Analyse beginnt, wie in vielen seiner Arbeiten, mit der Gegenüberstellung konträrer Hypothesen, der Fürthschen Quellungstheorie und der Meyerhofschen Entquellungs- oder Entionisierungs-Hypothese. Die Entscheidung wird gesucht durch die osmometrische Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Myogens. In Berlin, wohin er 1927 überwechselte, wird diese Untersuchung vervollständigt durch die Aufnahme der Wasserstoffionen-Bindungskurve des Myogens. Typisch für sein Denken und seine Arbeitsweise ist die eingehende Diskussion zufälliger und systematischer Fehler, wie sie sich aus der Nichtberücksichtigung des nichtlösenden Raums oder der Donnan-Verteilung ergeben können. Er kommt zu dem Schluß, daß die Säurequellung als Mechanismus der Kontraktion auszuschließen sei. In der Beobachtung W. BIEDERMANNNS, daß das Myogen im Sarkoplasma lokalisiert ist, sah er keine Entwertung seiner Befunde. Denn, so meinte er, die auf der Ionisierungskurve des Myogens aufgebaute Ableitung dürfte prinzipiell für alle Eiweißkörper im Muskel gelten, da alle Proteine polyvalente Ionen sind. Aus der geringen Pufferkapazität des Myogens folgerte er schließlich, daß sich die Pufferung im wesentlichen in den Myofibrillen abspielen müsse. Ein Höhepunkt in der Myogen-Ära war die Arbeit, in der er das Massenwirkungsgesetz auf die Proteine als Zwitterionen anwendet. Er und K. LINDERSTRÖM-LANG waren die ersten, die nach den Anregungen von N. BJERRUM die Proteine als polyvalente Ionen behandelten. Oft hat er davon erzählt, wie er in den Ferien an der See die schwerfälligen Formeln der Arbeit abgeleitet hat. Abgeschlossen wurde die Myogen-Periode kurz vor dem Überwechseln nach Münster in Arbeiten mit PETER RONA und DAVID NACHMANSOHN.

In der ersten Arbeit über das Myosin (1925), dessen Sonderexistenz neben dem Myogen WEBER noch nicht mit Sicherheit erwiesen schien, untersuchte er sein elektrochemisches Verhalten und griff damit wieder in die Diskussion über die Meyerhofsche Kontraktionstheorie ein. Die Myosin-Periode schloß erst 1950 mit mehreren Untersuchungen über Masse und Maße des Myosinmoleküls. In diesem Zeitintervall hat WEBER an geordneten Myosinfäden die ersten Röntgendiagramme (mit GUNDO BÖHM) aufgenommen und im Elektronenmikroskop (mit MANFRED VON ARDENNE) die filamentöse Struktur des Myosins beobachtet. Größte Anerkennung brachten ihm die Ergebnisse der Untersuchungen der polarisationsoptischen und mechanischen Eigenschaften der Myosinfäden. Sie führten zusammen mit einer Mengenanalyse der Muskeleiweißkörper zu dem Schluß, daß die Myosinstäbchen in den anisotropen Abschnitten des quergestreiften Muskels lokalisiert sind. Diese Untersuchungen lieferten ihm das Material für seinen klassischen

Beitrag zu den Ergebnissen der Physiologie 1934, dessen Motiv es war, „herauszufinden, was gilt“. Er hat damals bereits vergeblich nach Wechselwirkungen der Zwischenstoffe des Muskelstoffwechsels mit seinen Myosinfäden gesucht. Es drängt sich die Frage auf, warum er diese Untersuchungen nach der Entdeckung des ATP durch KARL LOHMANN nicht noch einmal aufgegriffen hat. Sedimentations-Studien an Muskelextrakten (zusammen mit GERHARD SCHRAMM, 1942), in denen er neben dem bisher bekannten Myosin eine schwere Komponente des Proteins nachweisen und abtrennen konnte, waren die Grundlagen zu den Untersuchungen, mit denen er 1949 die wissenschaftliche Arbeit wieder aufnahm.

Als in Deutschland wissenschaftliches Arbeiten nahezu unmöglich geworden war, haben ALBERT SZENT-GYÖRGYI und seine Mitarbeiter die Weberschen Resultate aufgegriffen und durch unbefangenes Vorgehen die aufsehenerregende Entdeckung gemacht, daß es neben dem Myosin ein fädiges Protein im Muskel gibt, das mit Myosin Komplexe bildet, das Aktin. Darüber hinaus waren kurz zuvor in England durch D. und J. NEEDHAM und in Rußland durch W. A. ENGELHARDT und M. N. LJUBIMOVA Wechselwirkungen zwischen ATP und Myosin entdeckt worden, die die weitere Entwicklung maßgeblich beeinflußt haben. In diese stürmische Entwicklung hat WEBER ohne Zögern eingegriffen, nachdem 1948 in Tübingen bescheidene Arbeitsmöglichkeiten gefunden waren. Nach einer erneuten Analyse der Molekulardaten des Myosins (mit GERHARD SCHRAMM und HILDEGARD PORTZEHL) hat er seine Aufmerksamkeit und die seiner Mitarbeiter auf die Wechselwirkungen des ATP mit den kontraktile Proteinen, seine dissoziierende und seine synäretische Wirkung gelenkt. Er hat in Anlehnung an seine Erfahrungen mit den Myosinfäden die Herstellung hochgeordneter kontraktile Aktomyosinfäden angeregt und die von A. SZENT-GYÖRGYI eingeführte Glycerinextraktion des Muskels dazu benutzt, das kontraktile Protein in seiner natürlichen Anordnung einer kritischen Analyse zugänglich zu machen. Die anfänglichen Versuche, die Wirkung des ATP als eine reversible Verminderung der Kohäsionskräfte zwischen den Filamenten und die Kontraktion als ein kinetisch-entropisches Phänomen zu erklären, hat er schnell aufgegeben, nachdem Beziehungen zwischen der Spaltung des ATP durch die kontraktile Proteine und ihre mechanischen Veränderungen immer deutlicher wurden. Er hat dann das Studium zwischen ATP-Spaltung und mechanischer Leistung verschiedener kontraktile Systeme vorangetrieben. Die Ergebnisse hat er so zusammengefaßt:

1. Im Ruhezustand ist die kontraktile Substanz sehr dehnbar und beinahe plastisch, weil der ruhende Muskel den Weichmacher ATP enthält, ohne ihn spalten zu müssen.

2. Bei der Arbeit kontrahiert sich das Aktomyosin, weil, als Folge der Erregung, ATP gespalten wird und das Aktomyosin erschlafft wieder, weil diese Spaltung aufhört, ehe der Weichmacher ATP in seinem Bestand erschöpft ist.

3. Falls es im intakten Muskel doch zu einer Erschöpfung des ATP-Bestandes kommt, wird der Muskel starr (Totenstarre).

In Heidelberg wurden dann die kontraktile Proteine einfacher motiler Strukturen, wie Fibroplasten usw., mit in die Untersuchung einbezogen – durch HARTMUT HOFFMANN-BERLING – und Arbeiten initiiert, die helfen sollten, den Mechanismus der Energietransformation im kontraktile System zu verstehen. In Filmen aus dieser Zeit, die zeigen, daß sich isolierte Myofibrillen unter der

Wirkung des ATP verkürzen, sieht man, daß die Kontraktion ohne Verkürzung der A-Banden verläuft. Wenn dennoch die Sliding-filament-Theorie von A. F. HUXLEY, H. E. HUXLEY und J. HANSON überraschte, so wohl deshalb, weil WEBER 1941 an eine Verschiebung längenkonstanter Elemente gedacht hat, sie aber damals nicht als Grundlage für die Verkürzung der Spannungsentwicklung des Muskels akzeptieren konnte.

WEBERS bleibendes Verdienst ist es, durch seine frühen Arbeiten für eine Kontinuität in der Erforschung der Muskelproteine gesorgt und damit den Boden für die großen Fortschritte auf dem Gebiet der Physiologie in den 50er und 60er Jahren bereitet zu haben. Seine bedeutendste wissenschaftliche Leistung war die Aufdeckung der Beziehungen zwischen der Hydrolyse des ATP durch die kontraktile Proteine und ihrer mechanischen Leistung. Als Dank haben ihm Schüler und Freunde aus aller Welt zum 70. Geburtstag einen Band im vorletzten Jahrgang (345, 1966) der Biochemischen Zeitschrift gewidmet.

Zeichen seiner frühen internationalen Anerkennung war die Einladung zu einer Sitzung der Royal Society kurz vor Ausbruch des zweiten Weltkrieges. Mit A. V. HILL verband ihn seit diesen Tagen eine enge Freundschaft. Nach dem Krieg gehörte er zu den ersten deutschen Physiologen, die auf internationalen Kongressen Plenarvorträge hielten und nach England und Amerika eingeladen wurden. Er wurde 1953 Mitglied der Harvey Society, 1958 Ehrenmitglied der American Academy of Arts and Sciences und 1959 der Amerikanischen Physiologischen Gesellschaft. Die Deutsche Akademie Leopoldina zu Halle wählte ihn 1953 und die Heidelberger Akademie 1969 zu ihrem Mitglied. Ehrenmitglied der Deutschen Physiologischen Gesellschaft wurde er 1966. Die Leopoldina ehrte ihn durch die Verleihung der Carus-Medaille 1955 und die Verleihung ihrer Ehrenmitgliedschaft 1971 „für seine umfangreichen und grundlegenden Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Muskelstoffwechsel und Kontraktionszyklus“. Er war lange Jahre Vizepräsident der Leopoldina und hat sich in dieser Zeit große Verdienste um diese Akademie erworben. Den Ehrendoktor haben ihm die naturwissenschaftliche Fakultät der Universität München und die medizinische Fakultät der Universität Halle verliehen. Er war Träger des Großen Verdienstkreuzes der Bundesrepublik Deutschland und des österreichischen Ehrenzeichens für Wissenschaft und Kunst. Zu der wohl schönsten Erfüllung dieses abgeschlossenen Lebens gehörten die wissenschaftlichen und künstlerischen Erfolge seiner Kinder, die er und seine Frau noch erleben durften.

Aus dem Schriftenverzeichnis von H. H. Weber

- V. ARDENNE, M., WEBER, H. H.: Elektronenmikroskopische Untersuchung des Muskeleiweißkörpers „Myosin“. *Kolloid-Z.* **97**, 322–325 (1941).
- BOEHM, G., WEBER, H. H.: Das Röntgendiagramm von gedehnten Myosinfäden. *Kolloid-Z.* **61**, 269–270 (1932).
- HASSELBACH, W., WEBER, H. H.: Anion specific carriers in the sarcoplasmic membranes. In: *Membrane proteins in transport and phosphorylation*, p. 103–111. Amsterdam: North Holland Publishing Co. 1974.
- KRATKY, O., SEKORA, A., WEBER, H. H.: Neue Kleinwinkelinterferenzen bei Myosin. *Naturwissenschaften* **31**, 91 (1943).

- MEYERHOF, O., WEBER, H. H.: Beiträge zu den Oxydationsvorgängen im Kohlemodell. *Biochem. Z.* **135**, 558–575 (1923).
- PORTZEHL, H., SCHRAMM, G., WEBER, H. H.: Aktomyosin und seine Komponenten. I. Mitt. *Z. Naturforsch.* **5b**, 61–74 (1950).
- PORTZEHL, H., WEBER, H. H.: Zur Thermodynamik der ATP-Kontraktion des Aktomyosinfadens. *Naturforsch.* **5b**, 123 (1950).
- SCHRAMM, G., WEBER, H. H.: Über monodisperse Myosinlösungen. *Kolloid-Z.* **100**, 242–247 (1942).
- SEIDEL, D. T., v. CHAK, D., WEBER, H. H.: Die absoluten Affinitätskonstanten von G-Actin und F-Actin mit ATP ITP CTP, GTP, ADP und IDP. *BBA* **140**, 93–108 (1967).
- WEBER, A., WEBER, H. H.: Zur Thermodynamik der Kontraktion des Fasermodells. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **7**, 339–358 (1951).
- WEBER, H. H.: Über die Rolle der Milchsäure bei der Bildung und Lösung der Muskelstarre. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **187**, 165–192 (1921).
- WEBER, H. H.: Das kolloidale Verhalten der Muskeleiweißkörper. I. Isoelektrischer Punkt und Stabilitätsbedingungen des Myogens. *Biochem. Z.* **158**, 443–472 (1925).
- WEBER, H. H.: Massenwirkungsgesetz und Kolloide. *Biochem. Z.* **189**, 381–406 (1927).
- WEBER, H. H.: Die Muskeleiweißkörper und der Feinbau des Skelettmuskels. *Ergebn. Physiol.* **36**, 109–150 (1934).
- WEBER, H. H.: Adenosine triphosphate and motility of living systems. *Harvey Lect., Ser. XII*, 37–56 (1955).
- WEBER, H. H.: Das molekulare Geschehen bei den Bewegungen der Lebewesen. *Nova Acta Leopold. N. F.* **17**, 483–496 (1956).
- WEBER, H. H.: *The motility of muscle and cells.* Cambridge, Mass. USA: Harvard Univers. Press 1958 (Dunham Lectures) (1957).
- WEBER, H. H.: Die Rolle des Adenosintriphosphates und die Kontraktions- und die Erschlaffungsphase der Bewegungen von Muskeln und Zellen. *Nova Acta Leopoldina* **25** (1962).
- WEBER, H. H., MEYER, K.: Das kolloidale Verhalten der Muskeleiweißkörper. V. Das Mengenverhältnis der Muskeleiweißkörper in seiner Bedeutung für die Struktur des quergestreiften Kaninchenmuskels. *Biochem. Z.* **266**, 137–152 (1933).
- WEBER, H. H., NACHMANSOHN, D.: Die Unbehängigkeit der Eiweißhydratation von der Eiweißionisation. *Biochem. Z.* **204**, 215–252 (1929).
- WEBER, H. H., PORTZEHL, H.: Muscle contraction and fibrous muscle proteins. *Advanc. Protein Chem.* **7**, 161–252 (1952).
- WEBER, H. H., PORTZEHL, H.: Kontraktion, ATP-Cyclus und fibrilläre Proteine des Muskels. *Ergebn. Physiol.* **47**, 369–468 (1952).

Synaptic Receptor Proteins. Isolation and Reconstitution in Artificial Membranes*

E. DE ROBERTIS**

Contents

1. Introduction	9
2. Extraction of Receptor Proteins	10
3. Hydrophobic Receptor Proteins or Proteolipids	11
4. Separation of Receptor Proteins	13
5. Separation of Glutamate and GABA Receptor Proteins	15
6. Purification of Receptor Proteins by Affinity Chromatography	18
7. Degree of Purification of Receptor Proteins	20
8. Conformational Changes in Isolated Receptor Proteins	21
9. Ion Conduction Mechanism in Artificial Membranes	23
10. Cholinergic Receptor in Artificial Membranes	23
11. Adrenergic Receptors in Artificial Membranes and the Stereoselectivity of the Response	28
12. Isolated Receptor Proteins and Activation of Phosphatidylinositol Metabolism	30
13. Possible Integration of the Receptor Protein within the Cell Membrane	31
Summary	33
References	34

1. Introduction

The concept of drug receptors originated from the finding that minute concentrations of certain drugs could produce physiological changes. In 1878 LANGLEY studied the effects of atropine and pilocarpine on the submaxillary gland and postulated that the tissue must contain some kind of receptor substance for these drugs. This concept was further strengthened by his studies of the effect of nicotine and curare on the myoneural junction (LANGLEY, 1906). According to LANGLEY, the neural region of the muscle must contain a receptive substance that is activated by nerve impulses and blocked by curare. Since that time progress in the study of neuroactive receptors has been very slow and they have remained a rather mysterious entity. The next advance concerning the localization of receptors came when COOK (1926) observed that methylene blue applied to the surface of frog heart could antagonize the effect of acetylcholine. More direct evidence of the localization of receptors was found in 1955 when DEL CASTILLO and KATZ found that the cholinergic transmitter acted only when

* This work was supported by a Grant from the National Institutes of Health, USA (5 ROI NS 06953/08-NEUA).

** Instituto de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

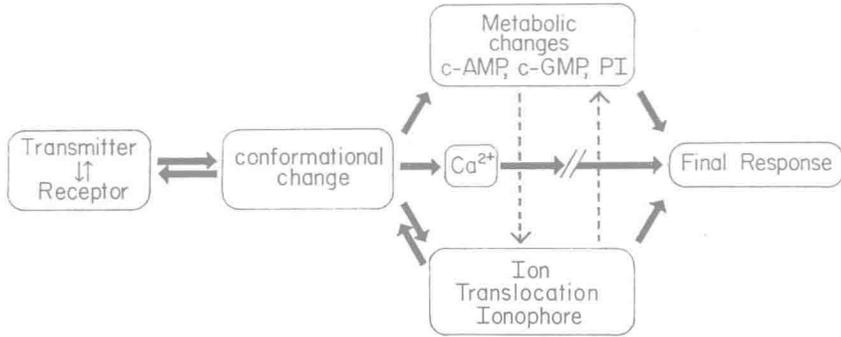


Fig. 1. Primary neurotransmitter-receptor protein interaction and the series of changes that may induce the final response (see description in the text)

applied microiontophoretically on the outer surface of the myoneural junction. Thus it became accepted that synaptic receptors are genetically determined macromolecules, localized within the structure of the postsynaptic membrane and having specific binding sites that recognize the neurotransmitter (see EHRENPREIS *et al.*, 1969). Whereas for many years the drug-receptor interaction had been noted by the final physiological response (i.e. contraction or relaxation of a muscle, secretion of a gland and so forth), the time was now ripe for the study of the primary events that occur at cellular level and within the realm of the cell membrane. We now assume that the ligand-receptor interaction triggers a conformational change in the receptor protein, which in turn initiates a series of changes in the membrane, resulting in translocation of ions, displacement of Ca^{2+} , changes in membrane potential, activation of adenylyl cyclase, and other metabolic effects leading up to the physiological response (Fig. 1). The presence of receptors allows the action of drugs to be highly specific. In fact, certain drugs may act only on a certain type of cell (biological specificity) or may show a high degree of chemical specificity. One extreme case of chemical specificity is the stereoselectivity of the adrenergic receptor for adrenergic drugs (see PATIL and LA PIDUS, 1972).

More recently, decisive progress has been made in this field with the demonstration that receptors can be isolated as biochemical entities and that their molecular properties—particularly the primary ligand-receptor interaction and the induced conformational change—can be studied by biochemical and biophysical techniques (see DE ROBERTIS, 1971).

2. Extraction of Receptor Proteins

The techniques involved in the isolation of synaptic receptors have some similarities to those used for enzymes. However, there are important differences which

make the isolation of receptors considerably more difficult. In general, enzyme activity can be assayed *in vitro* at different stages of isolation and purification. In the case of receptors, as soon as the integrity of the cell is lost, there is no possibility of observing a physiological response. We can follow the binding of the ligand to the various subcellular fractions, and affinity constants can be obtained and compared with those found in the intact tissue by traditional pharmacological procedures (ARUNLAKSHANA and SCHILD, 1959; FURCHGOTT, 1967). However, for several reasons we should not expect the two types of constants to coincide (see DE ROBERTIS, 1974a).

Other difficulties related to the isolation of receptor proteins are that they are present in very small concentrations and that they are intrinsic to the membrane, i.e. of the type recognized as integral proteins by SINGER and NICOLSON (1972). Such proteins need the action of organic solvents, strong detergents or chaotropic agents to separate them from the membrane structure. Integral proteins are hydrophobic and are surrounded by lipid molecules within the membrane. In fact, they cannot be dissolved in water unless they are surrounded by a considerable number of attached detergent molecules, which replace the lipids.

These methodological problems explain why two main biochemical approaches are used to separate receptors. These involve the use of organic solvents (DE ROBERTIS et al., 1967) and detergents (CHANGEUX et al., 1970). The latter technique is being actively applied in many laboratories and there is already a large literature which we do not propose to review in detail (for recent reviews, see the books edited by RANG, 1973; DE ROBERTIS and SCHACHT, 1974). Here I present a general survey of the work of our own and other groups using organic solvents as the first step in the isolation of synaptic receptors (Table 1).

3. Hydrophobic Receptor Proteins or Proteolipids

FOLCH-PI and LEES (1951) isolated from white matter hydrophobic proteins intimately related to lipids; they called these substances proteolipids. These proteins are the major constituents of myelin and are found as part of the integral protein in all biomembranes (for literature, see BARRANTES et al., 1972a). Proteolipids are unique among membrane proteins in that they are soluble in organic solvents, that is, in a condition that to some extent reproduces the microenvironment of these proteins within the cell membrane.

Studies carried out mainly on proteolipids from myelin have demonstrated that they can be delipidized to a considerable extent, yielding an apoprotein which has a high content of α -helix (60–90%) in the organic medium. The same protein transferred to water may show a considerable change in tertiary structure and the α -helix content may be reduced to 16%, the rest of the molecule remaining as β configuration or random coil (SHERMAN and FOLCH-PI, 1970). We have information about the amino acid composition of some non-receptor proteolipids (EICHBERG, 1969) and of a proteolipid isolated from the cerebral cortex (BARRANTES et al.,

Table I. Hydrophobic receptor proteins isolated with organic solvents

Tissue	Drugs used in the binding	Reference
<i>Cholinergic proteins</i>		
1 ^a Cerebral cortex	dimethyl ¹⁴ C-d-tubocurarine	DE ROBERTIS et al., 1967
2 ^a Cerebral cortex	³ H-atropine and atropine sulphate	DE ROBERTIS et al., 1969 b
3 Cerebral cortex	¹⁴ C acetylcholine, dimethyl ¹⁴ C-d-tubocurarine	IZUMI and FREED, 1974
4 Insect brain	¹⁴ C-acetylcholine, ¹⁴ C-decamethonium	CATTEL and DONNELLAN, 1972
<i>Cholinergic Nicotinic Proteins</i>		
5 ^a Electric tissue (<i>Electrophorus</i>)	¹⁴ C-acetylcholine, ¹³¹ I-bungarotoxin	LA TORRE et al., 1970; FISZER DE PLASAS and DE ROBERTIS, 1972 a
6 Electric tissue (<i>Torpedo</i>)	¹⁴ C-hexamethonium, ³ H-Tdf ^b	LA TORRE et al., 1970
7 ^a Skeletal muscle	¹⁴ C-acetylcholine, ¹⁴ C-decamethonium, ³ H- α -bungarotoxin	DE ROBERTIS et al., 1972
<i>Cholinergic Muscarinic Protein</i>		
8 ^a Intestinal muscle	³ H-atropine	OCHOA and DE ROBERTIS, 1973
<i>Adrenergic Proteins</i>		
9 ^a Basal ganglia	¹⁴ C-Sy28, ¹⁴ C-dibenamine ¹⁴ C-propranolol	FISZER and DE ROBERTIS, 1968; DE ROBERTIS and FISZER, 1969
10 Vas deferens	¹⁴ C-Sy28	MOTTRAM and GRAHAM, 1971
11 Spleen capsule	³ H-norepinephrine	FISZER DE PLAZAS and DE ROBERTIS, 1972 b
12 ^a Heart (β adrenergic)	³ H-isoproterenol	OCHOA et al., 1972 b
<i>Serotonergic Proteins</i>		
13 ^a Basal ganglia	³ H-5-hydroxytryptamine	FISZER and DE ROBERTIS, 1969
14 Mid brain	³ H-5-hydroxytryptamine	GODWIN and SNEDDON, 1974
<i>Aminoacid Receptor Proteins</i>		
15 Shrimp muscle (glutamate)	¹⁴ C-glutamate	FISZER DE PLAZAS and DE ROBERTIS, 1973
16 Shrimp muscle (GABA)	¹⁴ C-GABA	FISZER DE PLAZAS and DE ROBERTIS, 1973
17 Insect muscle (glutamate)	¹⁴ C-glutamate	LUNT, 1973
18 ^a Cerebral cortex (glutamate)	¹⁴ C-glutamate	(Unpublished results)
19 ^a Cerebral cortex (GABA)	¹⁴ C-GABA	(Unpublished results)
20 ^a Spinal cord (glycine)	¹⁴ C-glycine	(Unpublished results)
<i>Opiate Receptor Protein</i>		
21 Mouse brain	(-) ¹⁴ C-levorphanol	LOWNEY et al., 1974

^a Isolation of receptor protein was done in whole tissue and from subcellular fractions.

^b ³H Tdf-³H-p-(trimethylammonium)-benzene diazonium fluoroborate.