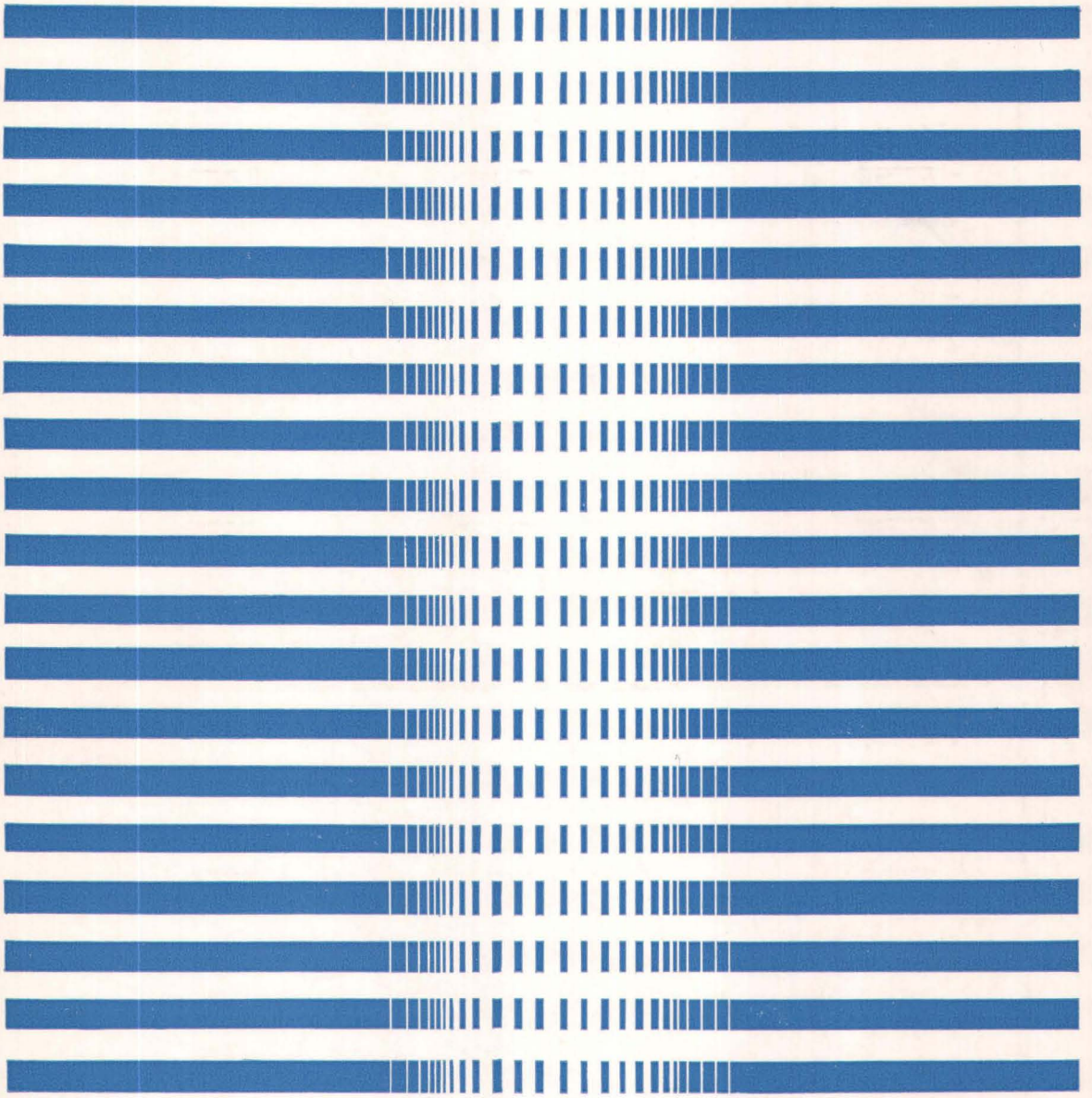
神経化学

Bulletin of the Japanese Neurochemical Society



Vol. 6 No. 1 1967

日本神経化学会

精神分裂病・躁うつ病の治療に….

プロピタン錠・散

ピパンペロン製剤

ブチロフェノン系薬剤プロピタン錠はベルギーの Dr. C. Janssen により開発されたもので，フェノチアジン系，レセルピン系に次ぐ第三の向精神薬として注目されている。特に幻覚・妄想などの異常体験を主症状とする精神疾患に優れた効果を発揮し，陳旧化した分裂病の自閉，自発性欠如の改善にも独特の効果が見られる。

健保薬価 50mg 1錠 43円30銭
10% 1g 86円60銭

トラキラン錠・顆粒

クロルプロチキセン製剤

トラキランは感情領域の疾患，特に自閉・自発性減退等を主症状とする分裂病の精神レベルを高揚し，従来各種の向精神薬で奏効しなかった難治例にも独特な作用を示し，他の療法への誘導を容易にする。又抗抑うつ作用のほか強力な鎮静作用を有しており，過度の抑圧を来たすことなく優れた静穏効果が得られる。

健保薬価 15mg 1錠 16円50銭
50mg 1錠 49円40銭
10% 1g 98円80銭

てんかん小発作治療剤

エピレオ・プチマル

エピレオ・プチマルは種々の小発作型に対して広範囲に臨床発作を改善するばかりでなく，これらに特有の異常脳波像を著明に改善する。欠神発作にはもちろん従来の薬剤では難治とされているミオクロヌス発作・失立発作にもかなり高率に発作抑制が期待できる。又肝障害，盖明，発疹などの副作用がないので安心して長期間投与できる。

健保薬価 1カプセル 14円80銭

Eisai エーザイ

東京都文京区小石川4丁目
エーザイ株式会社
大阪・札幌・名古屋・福岡

「神経化学」の新発足にあたって

塚　田　裕　三

日本の神経化学の同好者が年1回相より，議論をかわす様になってから既に10年になる。この間にこの会のもつ独特な雰囲気，即ちなごやかな中に実にきびしい相互批判をかわすという慣例が築き上げられてきた。この様な風潮は日本に於ける神経化学の研究に大きな刺激となり斯学の為に貢献する処が大きかったことは確かであるが反面新しい生化学的技術による高度な基礎研究にのみ重点が置かれる傾向を強め，臨床各科の中で荒削りではあるが重要な問題を含む業績について議論がかわされる機会が少くなった事は反省さるべき事であろう。そしてこの会が今回日本神経化学会として再組織されたのを機会に日本の神経化学の研究の歩みをふりかえり，日本独自の研究方向についても考えなおす時期である様に思われる。

戦後20年の間に神経化学は急速に進歩したとはいっても尚 Molecular Basis で神経系の機能を研究する基礎固めが出来ていない現状であるといわざるを得ない。この辺で質的向上をめざして若手研究者の活躍が一段と期待されるわけである。また世界に先がけて出発した日本の神経化学の同好会は名実共に育ってはきたが当時の若手中堅研究者は大半がその座を確保し安住の傾向がありはしないであろうか。この意味で清新の息吹きをふき込む必要があるかも知れない。新しく発足した本誌の役割もこんな処に力点があってもよいであろう。一方国際的にも神経化学者の組織化が進められており，本年7月にストラスブール (フランス) で第1回の国際会議が開かれる事になった。そして J. Neurochem. はこの会の国際機関誌として新らたな役割を果たすことになる予定である。

神経化学という領域が生化学の一分科としてではなく，一つの独立した部門として発展することはこの学問の後進性を示すものに外ならないという議論もあるが，将来はともかく，現状では神経系の特殊性に鑑み，この領域の研究グループによる討論会は充分にその意義は認められてよいものと思われる。この意味からしても機関誌の充実は重要である。

然し機関誌「神経化学」が新しい装いのもとに出発する為には経費の点から或いは編集の為に研究者自らが貴重な時間を費さなければならない点等，種々の困難が予想されたのであったがそれにもましてこの道の同好者の間の意見交換を活発にし，新しい研究を推進する為に多くの協力者によって支えられ今ここに発刊のはこびとなったことは御同慶の極みである。

今後は御覧の如く原著論文が掲載される外，総説，文献紹介，学会ニュース，海外だより等多彩な内容をもつことになった。今回は準備の都合上発刊がおくれた点は会員各位に深くおわびしなければならない。これからは本誌に一つでも多く日本の研究を代表するような論文が掲載され，また会員相互の連絡の場として有効な役割を果たす様会員各位の御活用と御協力を切に望むものである。

本誌の編集にあたって特に御尽力を頂いている高垣玄吉郎氏および中島信也氏に衷心より感謝を捧げるとともに本誌刊行に際して御協力を頂いたエーザイ株式会社にも深謝したい。

1967. 6. 26.

臓器蛋白質，特に脳蛋白の抽出分離に関する研究

塚田裕三　野口鉄也
植村慶一　野村正彦
（慶応義塾大学医学部生理学教室）

各種臓器および細胞内粒子成分より80～90%の回収率で組織蛋白質を抽出する方法を考案した。すなわち組織を低温下に10倍量の脱イオン水でホモジェナイズした後，20KC, 150W, 5分間の超音波処理を強制冷却下に行ない，105,000g，60分の超遠心で得られる上清を分け，沈渣にさらに10倍量の脱イオン水を加えて同様の抽出をくりかえし，3回の抽出操作で全組織蛋白量の80～90%を水抽出液として得ることができた。この分画にはまた組織中の RNA, DNA および Lipid-P の90%以上が含まれる。水抽出された蛋白溶液は DEAE セルローズカラム，アクリルアミド DISC 電気泳動法および硫安分画法によりいずれも80%以上の回収率で分画することが可能であり，かなり均一な可溶化された蛋白であると考えられる。脳ミクロゾーム分画から水抽出された可溶化蛋白質は Na-K-ATPase 活性を保持しているし，また免疫化学的にも原ミクロゾーム蛋白とまったく同様の抗原性を示した。臓器蛋白質の生化学的研究には，その分離抽出法の確立が重要な課題となる。従来，新鮮組織より未変性の蛋白質を抽出する試みは数多くなされてきたが[1)~8)]，磨細組織より塩溶液を用いて蛋白質を抽出する方法ではその回収率は全蛋白量の20～40%にすぎず，構造蛋白質とよばれる一群のものは可溶化することがきわめて困難であった。著者らは脳の蛋白質の生理化学的研究を行なうために，組織蛋白質を能率よく可溶化する方法につき検討を行なった。
（受付　1966.12.1）

I. 実験方法

1. 蛋白質の抽出（図 1）

実験動物には成熟白鼠を使用した。白鼠を瀉血断頭後ただちに各臓器を摘出し，氷冷した等張食塩水中で洗滌後さらに氷冷脱イオン水中で食塩水を洗い，組織を小片として，10倍量の氷冷脱イオン水中でテフロンホモジェナイザーを用い3分間ホモジェナイズする。これらの操作は氷室内(4°C) で行なう。得られたホモジェネートを平底三角フラスコ（容量20～50ml）に入れ強制冷却下に20KC，150W，5分間の超音波処理を行なう。発振盤はなげ込み式（大岳製作所製）のものを用い，液面下 0.5～1.0cm に固定する。超音波処理後のホモジェネートは冷却下に105,000g，60分超遠心し，その上清を水抽出蛋白分画とした。超遠心後の沈渣はふたたび10倍量の冷脱イオン水にサスペンドし，前回と同様5分間の超音波処理を施して超遠心する。この操作を3回くりかえす。水抽出後の最終沈渣はさらに 0.5M-KCl 溶液にサスペンドし前回同様超音波処理を行なった後，10,000g，30分遠心後の上清を KCl 抽出蛋白分画とした。この操作を3回くりかえした後，0.5M KCl 抽出後の沈渣に10倍量の0.3% Triton-X-100 を含む 0.1M KCl 溶液を加え，ふたたび超音波処理を加えて 10,000g，60分遠心，その上清を Triton-X-100 抽出蛋白分画とした。

Extraction Procedure of Proteins from the Brain Tissue.

Yasuzo TSUKADA, Tetsuya NOGUCHI, Keiichi UYEMURA and Masahiko NOMURA.

Department of Physiology, School of Medicine, Keio University, Tokyo.

2. 細胞内粒子成分の分画[9)]

剔出組織を pH7.2 に調整した 0.32M 蔗糖液中でテフロンホモジェナイザーを用いホモジェナイズした後，800g，20分遠心してその沈渣を核分画した。この上清をさらに，8,000g，15分遠心しその沈渣をミトコンドリア

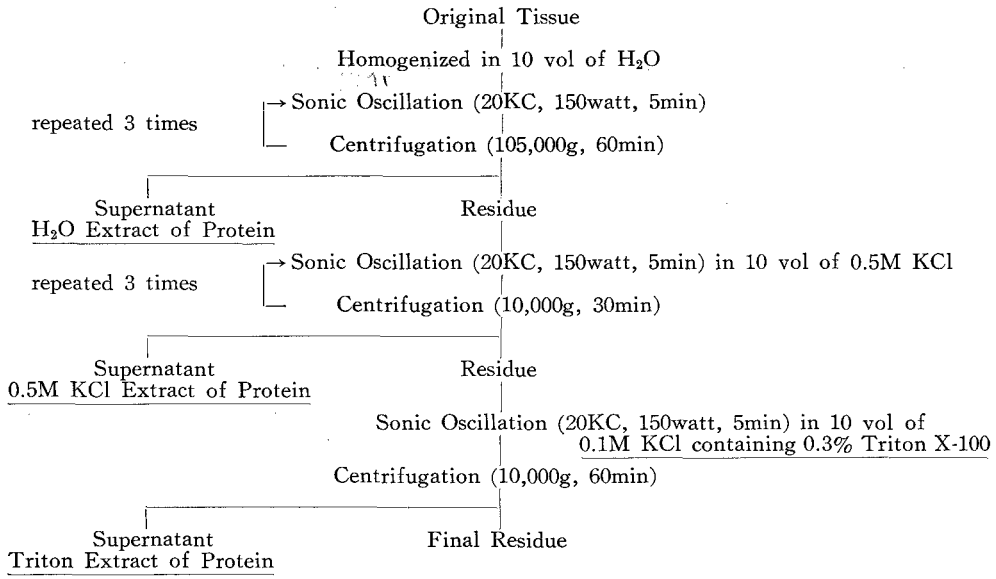


図 1 臓器蛋白質の抽出方法

表 1 脳組織蛋白質の抽出条件の検討

Medium / Trial	Water		Water +Sonication		0.15M NaCl		0.15M NaCl +Sonication	
	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)
Original (Found)	98.0	100.0	101.2	100.0	113.0	100.0	107.4	100.0
1	26.2	26.7	65.2	64.5	24.7	21.8	33.1	30.8
2	8.8	9.0 (41.2)	22.8	22.5 (92.0)	4.6	4.1 (28.1)	9.8	9.2 (43.5)
3	5.4	5.5	5.1	5.0	2.4	2.2	3.7	3.5
Residue	68.2	69.6	13.7	13.5	82.4	72.9	58.2	54.1
Total (Calculated)	108.6	110.0	107.1	104.8	114.1	101.0	104.8	97.5

分画とした。次にその上清を 105,000g，60 分超遠心した沈渣をミクロゾーム分画とした。

3. 化学的定量法

蛋白の定量は Lowry の方法[10]で行ない，牛血清アルブミン（第一化学）を標準試料とした。試料を可溶化する場合にはあらかじめ 1N-NaOH で溶解した後に蛋白定量を行なった。RNA，DNA，りん脂質の分離抽出は Hutchinson & Munro の方法[11]に準じて行ない，RNA は Mejbaum の方法[12]，DNA は Burton の方法[13]，Lipid-P は湿性灰化後無機りんを Allen の方法[14]で定量した。

4. ATP-ase 活性の測定

Na-K-ATPase の測定は Gibbs らの方法[15]に従って行なった。反応液の組成は ATP-2Na : 1mM, $MgCl_2$: 2mM, KCl : 6mM, NaCl : 150mM, Tris Buffer 20mM (pH7.3)のものを使用し，37°C，15分の incubation を行なった。遊離する無機りんの測定には Martin-Doty の方法[16]を用いた。

5. DEAE-セルローズカラムクロマトグラフィー

DEAE セルローズ (Brown) を Peterson & Sober の方法[17]により活性化してから 20mM Tris-Buffer pH8.5 で飽和させたものをカラムに充填する。カラムは 0.8×25cm のものを用い，外套管をつけ，これから常時 1～2°C の冷却液を灌流するようにした。カラムにかける試料には1/10量の0.2M Tris-Buffer pH8.5 を加えておく。溶出方法は最初に 20mM Tris-Buffer pH8.5 の溶液を用い，次いで 0.5M KCl+20mM Tris-Buffer pH7.6 さらに 1.0M KCl+20mM Tris-Buffer pH7.6 を溶出液として用い，階段的に塩濃度を上げるようにした (Bondy & Perry の方法[4])。カラムより溶出された液は flow

表 2 各種臓器における蛋白質抽出

	Trials	Brain		Liver		Kidney	
		Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)
Water Extraction with Sonication (20KC 5min.)	1	54.4	42.5	91.2	44.7	56.5	38.7
	2	38.6	30.5 (90.0)	56.5	27.7 (87.9)	34.3	23.5 (77.3)
	3	21.8	17.0	31.5	15.5	22.0	15.1
Saline (0.5M KCl) Extraction with Sonication (20KC 5min.)	1	3.0	2.3	11.1	5.4	7.9	5.4
	2	0.5	0.4 (2.9)	2.1	1.0 (6.9)	2.2	1.5 (7.4)
	3	0.2	0.2	1.0	0.5	0.8	0.5
Saline (0.1M KCl)+Triton X-100 (0.3%) with Sonication (20KC 5min.)		4.1	3.2	0.7	0.3	1.8	1.2
Residue		11.9	9.3	5.9	2.9	5.7	3.9
Total (Calculated)		134.5	105.0	200.0	98.0	131.2	89.7
Protein in original Tissue (Found)		128.2	100.0	204.0	100.0	146.0	100.0

表 3 核酸およびりん脂質の抽出

	RNA (mg/g wet wt.)	DNA (mg/g wet wt.)	Lipid-P (mg/g wet wt.)
Water Extraction with Sonication (20KC 5min.)	2.69	0.44	0.95
Saline (0.5M KCl) Extraction with Sonication (20KC 5min.)	0.01	0.00	0.03
Saline (0.1M KCl)+Triton X-100 (0.3%) with Sonication (20KC 5min.)	0.06	0.00	0.00
Residue	0.09	0.00	0.16
Total (Calculated)	2.85	0.44	1.14

表 4 脳細胞内粒子成分における蛋白質抽出

	Trials	Nuclei		Mitochondria		Microsomes	
		Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)	Protein (mg/g wet wt.)	Recovery (%)
Water Extraction with Sonication (20KC 5min.)	1	27.1	61.3	23.9	51.1	20.6	68.7
	2	8.0	18.1 (82.1)	7.9	16.9 (72.9)	4.7	15.7 (88.4)
	3	1.2	2.7	2.3	4.9	1.2	4.0
Residue		10.0	22.6	14.0	29.9	8.5	28.3
Total (Calculated)		46.3	104.7	48.1	102.8	35.0	116.7
Original (Found)		44.2	100.0	46.8	100.0	30.0	100.0

cell type の UV レコーダー（大岳製作所）に導き，OD_{260} を連続的に記録した後，溶出液はフラクション・コレクターに分取し，各試料につき再度，紫外部の各波長で吸収を測定後化学定量を行なった。

6. アクリルアミド-DISC-電気泳動法

Ornstein の原法[18),19)]に従い6×70mmカラムに分離相として7.5%アクリルアミドを用いた。白金電極を入れる上下槽にはともに Tris-glycine-Buffer pH8.3 を満し，上槽を陰極，下槽を陽極とし，カラムあたり，4mA の電流で1時間の泳動を行なった。泳動後の蛋白質の染色にはアミドブラックを用いた。

7. 硫安分画[20),21)]

組織の水抽出蛋白分画を常法により20，40，60，80%飽和となるよう硫安分画を行ない，得られた各分画につき透析後それぞれ化学定量を行なった。

8. 免疫化学的方法[22]

Ouchterlony の原法に従い，超音波処理水抽出蛋白の免疫化学的特性を寒天ゲル内沈降反応により検討した。

II. 実 験 成 績

1. 水可溶化蛋白質の抽出

a. 抽出液と超音波処理の影響

白鼠大脳を用い，抽出液として脱イオン水と 0.15M NaCl による組織ホモジェネートからの可溶性蛋白質，

表 5 超音波処理水抽出脳ミクロゾーム蛋白の Na-K-ATPase 活性の検討

Enzyme / Additions	μmoles Pi/min./mg Protein	
	micro-some	solubilized microsome extracted by water with sonication
Mg^{++} (2mM)	0.68	0.44
Mg^{++} + Na^{+} + K^{+} (2mM)(150mM)(6mM)	1.58	1.03

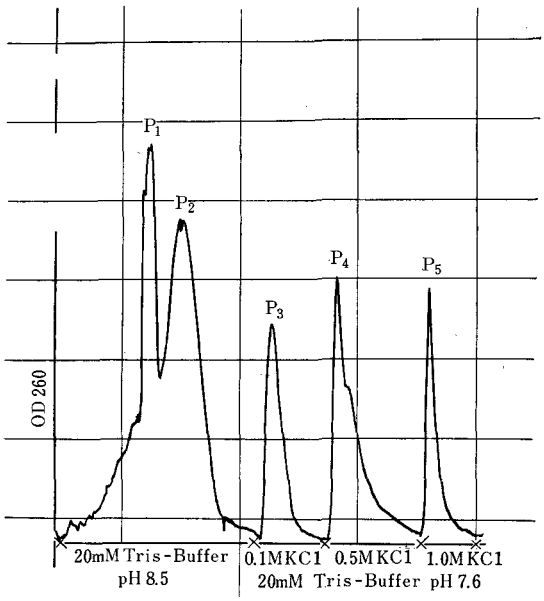


図 2 超音波処理水抽出蛋白の DEAE-セルローズカラム分画パターン

表 6 超音波処理水抽出蛋白の DEAE-セルローズカラムによる各分画の蛋白質，核酸およびりん脂質の含有量の比較

		Protein mg	Protein %	RNA μg/mg Protein	DNA μg/mg Protein	Lipid-P μg/mg Protein
Nuclei	P 1	2.2	11.1	0.5	0	3.1
	P 2	3.1	15.2	0	0	1.0
	P 3	4.9	24.2	0.8	0	1.0
	P 4	7.9	39.1	8.3	42.6	2.7
	P 5	2.1	10.8	9.4	12.1	3.4
	Total (Calculated)	20.2	100.0	4.4	18.0	2.1
	Original (Found)	23.6		4.7	18.0	2.7
Microsomes	P 1	2.5	17.0	15.3	0	34.6
	P 2	2.0	13.9	0.4	0	2.1
	P 3	2.1	14.5	2.6	0	3.6
	P 4	5.8	40.3	15.9	0	3.4
	P 5	2.0	13.9	8.5	0	4.2
	Total (Calculated)	14.4	100.0	10.2	0	8.1
	Original (Found)	17.4		13.8	0	9.0
Whole Brain	P 1	6.7	23.1	33.6	0	28.6
	P 2	3.4	11.5	2.3	0	6.6
	P 3	7.9	27.2	14.9	0	3.7
	P 4	9.9	34.0	31.5	11.0	4.2
	P 5	1.2	4.2	95.2	6.1	2.2
	Total (Calculated)	29.1	100.0	25.2	3.9	10.1
	Original (Found)	35.6		27.6	4.3	9.2

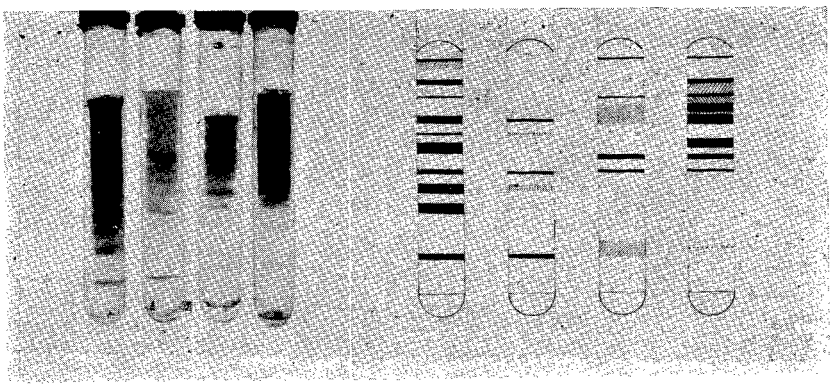


図 3 アクリルアミド DISC 電気泳動によるパターン

(105.000g, 60分遠心上清)の抽出量を比較した。脱イオン水を用いる場合には3回抽出操作をくりかえすことにより全蛋白量の40%が抽出された。一方，等張食塩水では同様の条件でわずか28%の組織蛋白質が抽出されるにすぎず，蛋白質の抽出には塩溶液よりも水抽出のほうが可溶化される蛋白量が多いことが示された（**表 1**)。

この条件にさらに20KC, 150W, 5分間の超音波処理を加えると，蛋白の抽出量はいずれの場合にも約2倍に増加するが，特に脱イオン水を用い超音波処理を行なった場合には3回の抽出操作で，全蛋白の90%以上が105,000 g 60分の超遠心上清に回収された。しかし食塩水による抽出の場合には超音波処理を行なってもその回収率は50%以下であった（表1)。また 0.32M 蔗糖，20mM Tris-Buffer pH7.0 を抽出液として用い超音波処理を行なった場合にも食塩水の場合と同様可溶性蛋白の回収は40%程度にとどまった。

b. 各種臓器ならびに細胞内粒子成分からの蛋白質の抽出

白鼠の脳，肝，腎を用い，組織蛋白を逐次的に抽出し，その回収率を検討した。まず脱イオン水を用い5分間の超音波処理を加えて，3回の抽出操作を行なうと，脳，肝，腎いずれの場合にも80%～90%の蛋白質が水抽出液中に回収されるが，腎の場合には脳，肝に比し，回収率がやや低い。次に3回の水抽出後 0.5M KCl 溶液に沈渣をサスペンドし超音波処理を加えて，さらに抽出を行なうと，少量ではあるがこの操作により抽出される蛋白分画がある。また detergent である Triton X-100 を加えてさらに抽出を行なうと脳の場合には3%程度の蛋白が新たに抽出される。しかし肝，腎ではこの分画の蛋白質はきわめてわずかであった。この条件で抽出された各種蛋白分画につき RNA，DNA，Lipid-P の量を測定してみると表3のごとくで何れも最初の水抽出分画に90%以上回収された。

次に脳組織の細胞内粒子成分を分画した後，各分画より超音波処理水抽出による蛋白量の抽出率を比較してみると，表4のごとくで核およびミクロゾーム分画では，全脳ホモジェネートの場合と同様，蛋白の回収率は80%以上であったが，ミトコンドリア分画の場合には回収率はやや低値を示した（表 4)。

2. 脳ミクロゾーム分画の水抽出蛋白質での Na-K-ATP-ase 活性

脳組織のミクロゾーム分画から超音波処理水抽出で得られた可溶化蛋白の Na-K-ATP-ase 活性を測定してみると，蛋白あたりの酵素活性は原ミクロゾーム分画のものの65%の活性が認められた。また Mg-ATP ase 活性も前者と同様原ミクロゾーム分画の65%活性を保持しており可溶化されたミクロゾーム分画で ATP-ase 活性がよく保たれていることが示された（表 5)。

3. DEAE セルローズカラムクロマトグラフィー

全脳，核およびミクロゾームの各分画より得られた水抽出可溶性蛋白を DEAE セルローズカラムで分画してみると，全脳の水抽出蛋白液の場合には図2に示すごとき溶出像が得られ，OD_{260} で5つのピークが認められた (P_1, P_2, P_3, P_4 および P_5)。さらに溶出液をフランクションコレクターに分取した後，各分取液中の蛋白量，RNA・DNA 量，Lipid-P 量を測定した。溶出される蛋白量は P_4 に最も多く P_3, P_1 がこれに次いでいる。そして回収される蛋白量は原試料中のものの80%以上であった。20mM Tris-Buffer pH8.5 で最初に溶出されるものは2つのピーク (P_1, P_2) に分かれ，これらのものはカラムに吸着することなく，溶出されるもので，特に P_2 は OD_{260} のほうが OD_{280} より高値を示し 250mμ に吸収極大をもつものであった。しかし P_2 分画は脱イオン水中で透析すると 250mμ の吸収極大は消失し 280mμ に吸収極大が移行した。また P_2 分画は DNA を含まず RNA もきわめてわずかであった。次に 0.1MKCl で溶

表 7　超音波処理水抽出大脳蛋白の硫安分画

Fraction	Protein mg	RNA μg/mg-Protein	Lipid-P μg/mg-Protein
Homogenate	110	15.5	6.4
B-H-Sonic-Sup.	73.0	15.3	4.2
〃 −20% Ppt	11.7	25.6	6.7
〃 −40% Ppt	13.9	18.0	5.6
〃 −60% Ppt	9.0	22.2	0.9
〃 −80% Ppt	3.9	14.1	0.3

表 8　超音波処理水抽出脳ミクロゾーム蛋白の硫安分画

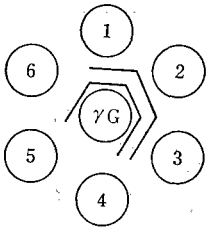
Fraction	Protein mg	Protein %	RNA μg/mg-Protein	Lipid-P μg/mg-Protein
B-Ms-Sonic-Sup (Found)	46.4	—	13.8	9.0
〃 −20%-Ppt	1.3	3.2	10.9	8.5
〃 −40%-Ppt	31.4	76.4	18.6	10.7
〃 −60%-Ppt	4.8	11.8	11.9	5.5
〃 −80%-Ppt	2.5	6.1	10.3	7.6
〃 −80%-Sup	0.8	2.0	13.3	1.9
Total (Calculated)	40.8	100.0	—	—

出される P_3 分画および 0.5MKCl で溶出される P_4 分画はいずれも 280mμ に吸収極大をもつ蛋白含量の高い分画であった。さらに 1.0MKCl で溶出される P_5 分画は 260mμ に吸収極大をもち蛋白含量は比較的少なく，RNA 含量の高い分画であった。

核，ミクロゾーム分画からの水抽出蛋白を DEAE-セルローズカラムで分離してみると前と同様，OD_{260} で5つのピークが得られる。蛋白含量は P_4 に最も多く核では P_3 分画にもかなりの量が認められる。RNA は P_4，P_5 分画に主として溶出されるし，DNA は P_4 分画に最も多く，P_5 分画にも認められるが，P_1，P_2，P_3 分画には溶出されない。Lipid-P は P_1 分画に最も多量に見いだされ，その他の分画には量的には少ないがほぼ均等に分布している（表 6）。

4. アクリルアミド DISC 電気泳動

全脳および脳，肝，腎それぞれのミクロゾーム分画の音波処理水抽出液についてアクリルアミドを支持体とする DISC 電気泳動法により蛋白を分けてみると，全脳では11層，脳ミクロゾームは5層，腎ミクロゾームは7層，肝ミクロゾームでは12層のアミドブラックによる染色帯を認めることができた（図 3）。この内全脳および脳ミクロゾームのものでは陽極側に速く移動する酸性蛋白と考えられる染色帯が認められた。電気泳動後分離相に展開される蛋白質の量は原試料中の蛋白の 80% であり，満足すべき回収率であった。



1；B-Ms
2；B-Ms-DOC-Sup
3；B-Ms-Sonic-Sup
4；L-Ms-Sonic-Sup
5；K-Ms-Sonic-Sup
6；B-S

図 4　超音波処理水抽出蛋白の抗原性の検討

5. 硫安分画

白鼠大脳より超音波処理水抽出したものを硫安分画してみると20%，40%，60%飽和硫安で得られる沈渣にそれぞれかなりの蛋白量があり，Lipid-P は20%，40%飽和の部分に多い（表 7）。

次に白鼠脳ミクロゾーム分画より超音波処理水抽出を行なった蛋白溶液につき硫安分画を行なうと40%飽和硫安沈渣に最も多量（76%）の蛋白質が回収された。RNA 量は40%沈渣分画にやや高いが，その他の分画にもほぼ一様に分布している。Lipid-P は40%分画に最も多く，80%飽和硫安上清で最も少ない（表 8）。

6. 水抽出蛋白の抗原性

白鼠脳ミクロゾーム分画を用いて家兎を免疫し，得られた抗白鼠脳ミクロゾーム家兎血清より γ-グロブリンを調整して抗体とし，脳ミクロゾーム蛋白との間で寒天ゲル内沈降反応を行なってみると，2本の明瞭な沈降線が認められる。そこで白鼠脳ミクロゾーム分画から超音波処理水抽出により得られた可溶化蛋白を抗原とし，その抗原性を検討してみたところ，脳ミクロゾーム分画及びデオキシコール酸処理したミクロゾーム蛋白とまったく同様の沈降線を示し，超音波処理水抽出によって得られた蛋白質は抗原性にも変化が認められなかった(図4)。

III. 考　按

臓器蛋白質の生理化学的研究に際し，各種臓器より蛋白質を可溶化して抽出しうるならばこれはきわめて有効な方法となる。しかし従来試みられている塩溶液や緩衝液を用いる抽出方法では可溶性蛋白質として得られる部分は組織の全蛋白質の30%程度で，構造蛋白質についてはその可溶化はきわめて困難である。しかし特別な場合には高濃度の塩溶液を用いたり[23]，detergent を共存させることにより[24]，その可溶化が成功しているものもあるが精製は一般に困難である。

われわれは新鮮組織を脱イオン水でホモジェナイズし，これに低温下で 20KC，150W，5分間の超音波処

理を行なうことにより 105,000g 60分超遠心してもなお均一な蛋白質の懸濁溶液として得られるいわば可溶化組織蛋白質をきわめて能率よく回収しうる方法を検討してきた。この脱イオン水抽出に加えて，超音波処理を施すことが蛋白抽出のうえでいかなる意義を有するかはなお明らかでないが[25]，脱イオン水中で組織をホモジェナイズすることにより，構造蛋白質中の K^+, Mg^{++}, Ca^{++} などの金属イオンが失われ，蛋白と蛋白，あるいは蛋白と脂質との結合が弱まり，これに加えて超音波による振動で分子間の結合が破壊されこれにより小粒子化された蛋白分子が，溶液中に懸濁されるものと考えることもできよう。また水抽出によって得られた蛋白分画中には組織中の RNA, DNA 及び Lipid-P が90% 以上も回収され，これらの高分子物質もあるものは遊離で，あるものは蛋白質と結合した型で存在するものと考えられる。次に水抽出蛋白分画を DEAE セルローズカラムで分画すると5つのピークに分画することが可能で，蛋白含量は P_4 分画に最も多く，P_3, P_1 がこれについでいる。P_2 分画中に存在する 250mμ に吸収極大をもつ物質は透析により失われることから低分子の Oligonucleotides と考えられる。RNA は Bondy & Perry[4] によればミクロゾーム分画の塩溶液抽出液では P_5 分画にのみ溶出されるというがこれは OD_{260} のみで測定したもので P_4 に RNA が存在しない証拠とはならない。われわれの方法で抽出した蛋白分画では RNA は P_5 分画は勿論，P_4, P_1 分画にも見いだされ，RNA 分子の大きさの差異や遊離型，あるいは蛋白質との結合型などが別々に溶出されることも考えられる。すなわち P_4 はリボゾーム RNA P_5 は S-RNA に相当するのかもしれない。DNA については P_4 に最も多量に溶出されるが P_5 にもその存在が認められ，RNA の場合と同様，水抽出や超音波処理により，その存在様式がいろいろに変化していることが考えられる。また Lipid-P の含量は P_1 分画に最も高く，この分画は DEAE セルローズカラムに吸着されることなく，素通りする分画で塩基性蛋白乃至は中性の Lipoprotein の形で存在していることが予想される。水抽出蛋白質は硫安分画によっても分けることが可能で脳ミクロゾーム蛋白では40%飽和硫安沈渣に最も多量の蛋白が回収され，この蛋白は同時に RNA や Lipid-P の含量も高い。

さらに水抽出蛋白はアクリルアミドDISC電気泳動によっても回収率よく分離されるものであり，これらの成績から考えると超音波処理水抽出によって得られる組織蛋白質はクロマトグラフィーや硫安分画法により精製することも可能であり，一応可溶化されたものであるとみなすことができる。

脳ミクロゾーム分画からの可溶化蛋白質について Na-K-ATP-ase 活性を調べてみるとなお60%以上その活性が保たれており，膜構造を必要とする酵素と考えられている Na-K-ATP-ase がその活性を失うことなくかなりの部分が可溶化されているとみられる。したがってこの方法を用うることにより Na-K-ATP-ase の精製も可能となるであろう。

さらに超音波処理水抽出により蛋白質の構造が変化することも考えられるので，免疫化学的な方法で，脳ミクロゾームからの可溶化蛋白質につき，その抗原性を原ミクロゾーム蛋白質と比較したが，まったく差異を見いだすことができなかった。このことは抗原性を決定している蛋白質の分子構造のうえにも大きな変化がないことを示しており，上記の方法で得られた可溶化蛋白質はなお充分機能を維持したものであると見なすことができる。

(研究費の一部は文部省科学研究費の援助によった)

文　献

1) Halliburton, W. D.: *J. Physiol.* **15**, 90, 1894.
2) McGregor, H. H.: *J. Biol. Chem.* **28**, 403, 1916.
3) Robertson, D. M.: *J. Neurochem.* 1, 358, 1957.
4) Bondy, S. C. & Perry, S. V.: *J. Neurochem.* **10**, 593, 1963.
5) Moore, B. W. & McGregor, D.: *J. Biol. Chem* **240**, 1647, 1965.
6) Tenenbaum, D. & Folch-Pi, J.: *Biochim. Biophys. Acta.* **115**, 141. 1966.
7) Napier, E. A. & Olson, R. E.: *J. Biol. Chem.* **240**, 4244, 1965.
8) Bogoch, S., Rajam, P. C. & Belvol, P. C.: *Nature*, **204**, 73, 1964.
9) 植村，塚田，飯田：神経進歩，**7**, 763, 1963.
10) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J.: *J. Biol. Chem.* **193**, 265, 1951.
11) Hutchinson, W. C. & Munro, H. N.: *Analyst* **86**, 768, 1961.
12) Mejbaum, W.: *Z. Physiol. Chem.* **258**, 117, 1939.
13) Burton, K.: *Biochem. J.* **62**, 315, 1956.
14) Allen, R. J. L.: *Biochem. J.* **34**, 858, 1940.
15) Gibbs, R., Roddy, P. M. & Titus, E.: *J. Biol. Chem.* **240**, 2181, 1965.
16) Martin, J. B. & Doty, D. M.: *Anal. Chem.* **21**, 965, 1949.
17) Peterson, E. A. & Sober, H. A.: *J. Amer. Che. Soc.* **78**, 751, 1956
18) Ornstein, L.: *Ann. New York Acad. Sci.* **121**, 321, 1964.
19) Vos, J. & van der Helm, H. J.: *J. Neurochem.* **11**, 209, 1964.
20) Hofmeister, F.: *Z. Physiol. Chem.* **14**, 165, 1889.

21) Lohn, E. J., McMeekin, T. L., Oncley J. L., Newell, J. M. & Hughes, W. L.: *J. Amer. Chem. Soc.* **62**, 3386, 1940.
22) Ouchterlony, Ö.: *Prog. Allergy*, **5**, 1, 1958.
23) Helander, E.: *Acta, Physiol. Scand.* **41**, Suppl. 141, 1957.
24) Ord, M. G. & Tompson, R. H. S.: *Biochem. J.* **49**, 191, 1951.
25) Ultrasonic Energy. ed. Kelly, E. (1965) Univ. Ill. Press.

脳のグルタミン酸代謝

——ネコ脳灌流法による——

中島良彦
(岡山大学医学部精神神経科教室)

グルタミン酸とグルタミン酸－^{14}C(U)を含む標準血で脳灌流を行ない，脳内遊離アミノ酸ならびに動静脈血液のアミノ酸量とその比放射能を測定して次の結果を得た。

1. 脳灌流15－95分で脳内遊離アミノ酸の比放射能は，グルタミン＞グルタミン酸＞アスパラギン酸の順となり，グルタミンの比放射能は常にグルタミン酸のそれを上回った。このことからグルタミン酸代謝の Compartmentalization を推測した。

2. このグルタミン酸の compartment を構成する代謝的に活発な小プールと，代謝的に緩慢な大プールの比は1対9となった。

3. 血液内グルタミン酸の脳内とりこみの割合は，大約0.01μmole/g 脳/分と計算された。灌流15－95分において，脳内グルタミン酸のうち血液内グルタミン酸に直接由来するものは，その0.58%である。

4. 脳静脈血中グルタミンの比放射能は脳内グルタミン酸のそれより著しく大であり，脳内グルタミン酸の代謝的に活発な小プールにおいて生成されたグルタミンがすみやかに血中に放出されていることがわかる。

5. 灌流早期より脳静脈血中に流出するグルタミン，グルタチオン，炭酸ガスの放射性は時間とともに上昇した。この放射性炭酸ガスの比放射能と血中グルタミン酸のそれとの比は約1%に達した。炭酸ガスの比放射能が同一実験の脳内グルタミン酸のそれより大となる場合があり，炭酸ガスについても compartment の存在を推測せしめた。

6. 脳動静脈血のグルタミン酸の比放射能はほとんど同一であり，灌流時間を通じて一定していた。したがって，必須アミノ酸およびグルタミン酸を含む標準血による灌流実験では，脳より静脈血中に非放射性グルタミン酸の著明な流出はないと考えられる。

(受付 1967.3.27)

序

グルタミン酸は，血中濃度を正常の血漿濃度の30倍に高めても，脳内にその蓄積がみられない (Schwerin and Bessman, 1950) ところから，血液—脳関門を通って脳にはいらないと考えられていたが，アイソトープでラベルされたグルタミン酸を使った最近の研究では (Lajtha, Berl and Waelsch, 1959; Flexner, Flexner and Roberts, 1958)，血液—脳間にかなりの交換があることが報告されている。脳内に大量に存在する遊離グルタミン酸の炭素源は，血液より供給されるグルコースより，クエン酸サイクルをまわる好気的解糖過程の中間代謝物質からくることが確かめられている。脳内グルタミン酸の炭素原子のうち，血液中のグルコース炭素原子より由来する割合は脳機能状態によって変化するが (二宮，in preparation)，Geiger (1962) らはネコ脳灌流実験において，この割合が30%にすぎないと報告し，他の内在物質より生成される可能性を示唆している。血液グルタミン酸が脳内に移行する速度については，Lajtha, Flexner の成績がある。さらにこのグルコースに由来する脳内グルタミン酸と，血液中よりとりこまれるそれとの間に，

The Metabolism of Glutamic Acid in Brain with Brain Perfusion Experiments.

Yoshihiko NAKASHIMA.

Department of Neuro-Psychiatry, Okayama University Medical School, Okayama.

脳の構造，機能などに関して，どのような関係があるかについては興味ある問題であるが，いまだに知られていない。

Berl (1961) らは，大槽内にグルタミン酸—^{14}C を投与した場合に，脳内グルタミンの比放射能 (SA) は投与したグルタミン酸のそれより高いことを認めた。このことから，脳内グルタミン酸に代謝的に活発なプールと，不活発なプールを想定し，脳グルタミン酸の代謝的 heterogenity を提示し，これを Metabolic Compartmentalization と名づけた。代謝的に活発な小さなプールにおいて，高い SA をもつグルタミン酸よりグルタミンが生ずると考えられた。この現象はグルタミン酸以外にγ-アミノ酪酸 (Cremer, 1964; Gaitonde, Dahl and Elliot, 1965)，グルタチオン (Lajtha, Berl and Waelsch, 1959) にもみられることが報告されている。

本稿に於いては，ネコ脳灌流法を用いて，血液中の放射性グルタミン酸の SA を実験時間を通じて一定に保ちながら，脳内遊離グルタミン酸およびその関連物質，また脳静脈内グルタミン，炭酸ガスの比放射能を測定し，血液グルタミン酸の脳への輸送の量的割合について報告し，さらに脳内グルタミン酸の代謝 Compartmentalization が15—95分灌流後のネコ脳髄にも認められ，そこで生成されたグルタミン，炭酸ガスがすみやかに血中に放出されており，血液炭酸ガスについても Compartmentalization がみられることを報告する。

I. 実 験 方 法

中枢神経系を無傷のまま残して，脳循環を体循環より切り放したネコ脳を，L-グルタミン酸-^{14}C(U)を含む人工血液で灌流し，その脳静脈血および脳内放射性代謝物質を分離定量した。

1. 実験動物および手術

Sodium pentobarbitone (ネンブタール5g/dl) 40mg/kg 腹腔内注射により麻酔された 2.5 kg 前後の成猫7匹を使用した。

脳灌流法は，原則として Geiger の方法にしたがっているが，池田 (1961) により一部変更を加えられ，さらに森光 (in preparation) により改良された方法を用いた。森光は低分子デキストラン (平均分子量 40,000) をヒドロデキストランの代わりに膠質浸透圧を保つために使用するとともに，各種必須アミノ酸，シチジン・モノ燐酸，各種ビタミンなどを単純血に加えることにより，脳機能をより良好に長時間維持することに成功し，また脳波的，代謝的，組織学的検索によってもほぼ生理的状態にあることを報告した。

体—脳分離手術は池田(1961)によって詳しく記載されており，また，渡辺 (1961)，山田 (1962) も概略を報告した。本実験の手技もそれらと大差ない。手術の完了したネコは，椎骨動脈と外頸動脈の枝（上甲状腺動脈，筋枝，舌動脈，上顎動脈）および椎骨静脈，内頸—，外頸静脈が結紮されてあり，sinus columnae vertebralis は特殊クリップで止められる。両外頸動脈の carotid sinus より心臓側においてT字型カニューレを取りつけ，体側を結紮してカニューレの一端を灌流装置に連結する。なお，脳を灌流した静脈血は sinus transversus にとりつけられたカニューレより流出する。

2. 灌流装置と方式（図 1）

灌流血液は貯血槽（ほぼ4°C に保たれている）より人工心肺用ローラー型ポンプにより押し出され，調圧器 (Geiger, 1947の原法通り)，電磁流量計を通り，恒温槽にて約 38°C±0.5°C にあたためられ，外頸動脈よりすぐさま脳にはいる。脳を循環した静脈血は，sinus transversus に開けられたカニューレを通って流出し，分析に供せられるが，ふたたび脳を通らない。すなわち，open system を採用した。貯血槽より，ネコ外頸動脈に至る間の死腔は約 50ml である。流圧は，140—110mmHg，流量 120ml/g 脳/分に保たれており，流量，温度，脳波，心電図を持続的に記録し，流圧，静脈血中の PH，酸素飽和度を一定時間ごとに記録した。灌流の終りに臨み，ネコ頭蓋を開け，可及的すみやかに脳を摘出し，ドライアイス—アセトン中に投じ凍結さす。この間約１～２秒である。脳標本はすべて皮質を用いた。

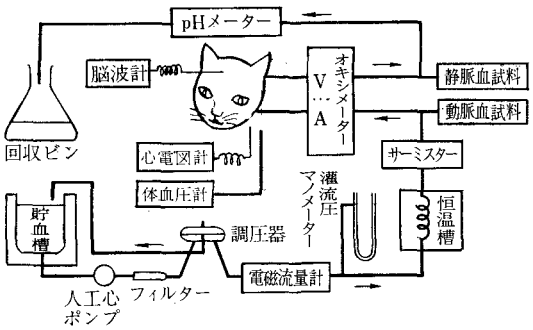


図 1 開放式脳灌流装置

3. 人工血液組成と作成法

灌流用人工血液の組成は表１に記載してある。ウシ動脈血より脱フィブリンして得られた血球成分をじゅうぶんに Krebs-Ringer 液で洗滌し，24時間透析，使用前１時間に Krebs-Ringer 液に血球成分30%になるように浮遊さした。グルコース，アルブミン，シチジン・モノ燐酸，各種ビタミン，ならびにネコの血漿濃度に近い量の必須アミノ酸を加えた（標準血）。さらに，グルタミン酸をネコの血漿のグルタミン酸とグルタミンの濃度の和に等

表 1 人 工 血 液 組 成

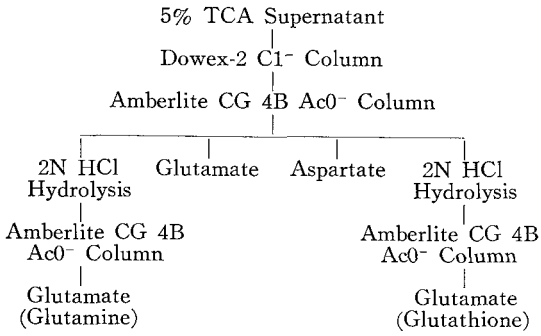
(mg/dl blood)

牛赤血球	40%	アミノ酸	Arg	2.71	Met	2.04
クレブス・リンゲル液	60%		Gly	1.80	Phe	2.88
低分子デキストラン (平均分子量40,000)	6%		His	1.29	Thr	2.1
牛血清アルブミン	0.5g/dl		Ileu	1.98	Try	0.9
シチジン・モノ燐酸 −2Na	8mg/dl		Leu	3.0	Val	1.92
グルコース	100mg/dl		Lys	5.76		
グルタミン酸	10mg/dl	総合ビタミン剤	A	100 iu	ニコチン・アマイド	0.4
			B_1	0.1	D−パントテノール	0.1
			B_2	0.22	B_{12}	4×10^{-5}
			B_6	0.04	D	10 iu.
			C	1.0		

表 2 血液ガス成分

酸素飽和度	94.5%	
酸素含有量	11–15	vol%
炭酸ガス含有量	3–18	vol%
乳酸	4–8.4	mg/dl
アンモニア	30	γN/dl
PH	7.2–7.3	

表 3 アミノ酸の分離



しい字丈，すなわち，0.5 μmole/ml 血液 添加した。放射性物質は L-グルタミン酸-^{14}C(U) (0.005 μC/ml 血液) を用いた。

4. 脳機能の観察

脳機能の示標として，皮質脳波を持続的に記録し（日本光電K.K.製8素子脳波計ME91-D)，瞳孔の大きさ，角膜一，眼瞼反射，痛覚，自動運動を随時検査した。

5. 脳標本および脳静脈血の化学的分析

i) 酸素，炭酸ガス含有量; Natelson (1951) 微量血液ガス分析法

ii) 血糖値; Somogy 法による除蛋白液を Saifer & Gerstenfeld (1958) の記載した glucose oxidase 法

iii) 乳酸; Baker & Summerson 法 (1941)

iv) アミノ酸量; Rosen (1957) のニンヒドリン改良法

v) アンモニア窒素; Conway (1957) 微量拡散分析法

vi) 遊離アミノ酸の分離，定量（**表3**）；テフロンホモゲナイザーを用いて作成した灌流脳TCA上清（5%トリクロル酢酸）ならびに血液 TCA上清を，Dowex 2×8Cl⁻型カラムにより TCA を除去 (Lajtha and Toth, 1962)，減圧蒸発した後，Amberlite CG4B-T2 酢酸型カラム（0.9×15cmカラム）により中性—塩基性アミノ酸分画，グルタミン酸，アスパラギン酸を分離した。アミノ酸の溶出には三田村理研製ユニグラードより 0.5M 酢酸 100ml 中に 4M 酢酸を加えることによって，酢酸濃度を直線的に漸増する gradient elution によった。中性—塩基性アミノ酸分画を 2N-HCl 中で 100°C 2時間加水分解した後，グルタミンをグルタミン酸として，Amberlite CG4BT-2 カラムで分離した。血液標本については，グルタミン酸，アスパラギン酸を溶出した後カラムに 2N-HCl を流し，液出液を 100°C，2時間で加水分解し，グルタチオン構成グルタミン酸を分離定量した。このグルタチオン分画はブタノール・酢酸・水（4 1 : 1）と75%フェノールを展開溶媒とするペーパークロマトグラフィーによって単一のニンヒドリン陽性スポットを示し，これは環元型グルタチオンと一致した。グルタチオン分画の2N-塩酸加水分解物のペーパーグラフをニンヒドリン発色前に細分し，このろ紙片をトルエン・PPO-ジメチル POPOP 液中で後述のように放射能を測定したところ，グルタミン酸スポットに相当するろ紙片のみが放射性をもつことを認めた。各アミノ酸の定量は Rosen 法 (1957) によるニンヒドリン発色で行なった。かくして灌流脳と脳動静脈血のグルタミン酸，アスパラギン酸（脳のみ），グルタミン，グルタチオン（血液の

み）を定量した。

6. 放射能の測定

L-グルタミン酸-^{14}C(U)は，第一化学薬品K. K. より入手した。各試料をガラス製計数びん内で蒸発乾固した後，1 M Hyamine のメタノール溶液0. 3ml にとかし，トルエン 1l 中に 4g の 2,5 diphenyloxazole (PPO) と 100mg の 1,4-bis-2(4-methyl-5-phyenyloxazolyl)-benzene (Dimethyl POPOP) を含む溶液 15ml を加え Packard 製 liquid scintillation spectrometer を用いて測定した。試料の自己吸収は external standardization により補正して，degradation per minutes (dpm) として記載した。炭酸ガスの放射能は血液 4ml を流動パラフィン下で 1N NaOH 1ml 加え，攪拌溶血させた後 1ml を Conway容器外側室内で 1N 乳酸 1ml により炭酸ガスを遊離させ 1M Hyamine のメタノール溶液を含ませたろ紙片に吸収させるため，90分放置後，このろ紙片をトルエン-PPO-dimethyl POPOP 15ml 中に入れて liquid scintillation spectrometer で測定した。

脳組織は血管に富む組織であり，血液を contaminate として脳重量の 1% 含んでいるといわれる (Lajtha, Furst, Gerstein & Waelsch, 1957)。したがって脳組織内の放射能量からその1%重量の血液放射能が含まれているものとして補正した。

II. 実 験 結 果

脳灌流法においては血液組成を任意に変えることができるために，血液内物質の変化による脳代謝を調べるうえにつごうがよい。さらに，in vivo では比較的困難であるところの投与した標識化合物の動脈血液中の比放射能を実験時間を通じて一定に保つことができ，得られた実験結果の解釈を容易にする利点をもっている。

本稿においては，L-グルタミン酸-^{14}C(U)を加えた人工血液を用いてネコ脳を灌流し，脳内のグルタミン酸，アスパラギン酸，グルタミンなどの比放射能を調べた。そのときの灌流動物の脳機能，脳波の時間的経過および脳内グルコース代謝については森光が報告したとおりである。

L-グルタミン酸-^{14}C(U)灌流：灌流実験における皮質脳波は灌流開始後15～20分を境として，中等振幅，β-dominant の覚醒 pattern とかわり，これが実験時間を通じてほとんど変化しない（図 2）。そこで脳波が β-dominant に移行してから，0.005μC/ml 血液のグルタミン酸-^{14}C(U)を灌流血に加え，その後さらに15～95分間灌流した。

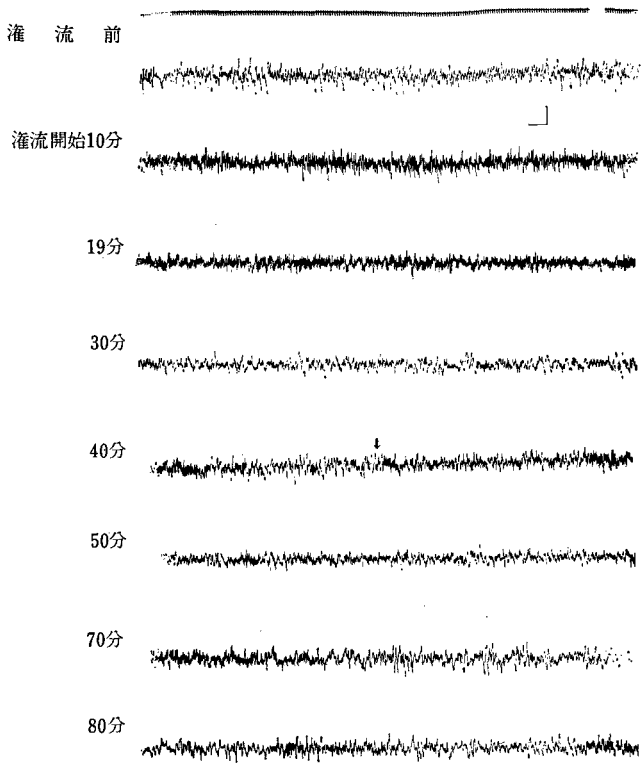


図 2 灌 流 脳 波

表 4 血液L-グルタミン酸-^{14}C(U)から脳遊離アミノ酸への移行

NO	min	Blood Glu SA	Glutamic Acid			Aspartic Acid				Glutamine			
			μmole/g	dpm/g	dpm/μmole	μmole/g	dpm/g	dpm/μmole	RSA	μmole/g	dpm/g	dpm/μmole	RSA
1	15	26000	8.04	1500	187	2.30	11	4.78	0.026	5.13	3350	653	3.49
2	34	9970	7.87	403	51	1.11	—	—	—	4.72	545	115	2.25
3	37	10800	9.53	622	65.2	0.93	28	30.4	0.46	7.9	1940	246	3.77
4	57	20100	7.43	681	92	0.92	30	32.6	0.35	5.22	1020	196	2.13
5	60	25000	7.33	1017	139	1.23	56	45.5	0.33	4.28	1097	256	1.84
6	57	15000	8.18	875	107	1.46	—	—	—	6.75	950	141	1.31
7	95	16700	7.62	639	83.8	1.03	—	—	—	5.40	1058	196	2.34

$$RSA=\frac{\text{dpm/}\mu\text{mole of amino acids in brain}}{\text{dpm/}\mu\text{mole of glutamic acid in brain}}$$

表 5 灌流脳アミノ酸の比較的比放射能 (RSA)

NO	1	2	3	4	5	6	7
min	15	34	37	57	60	58	95
Glu	0.685	0.51	0.61	0.46	0.55	0.71	0.502
			0.58±0.089				
Asp	—	0.53	0.28	0.16	0.23	—	—
			0.30±0.14				
Glu (NH_2)	2.18	1.15	2.27	0.97	1.02	0.94	1.17
			1.39±0.537				

$$RSA=\frac{\text{dpm/carbon atomes of metabolites in brain}}{\text{dpm/carbon atomes of glutamic acid in blood}}\times 100$$

脳内遊離アミノ酸の濃度について（表 4）：グルタミン酸，グルタミン濃度は実験時間を通じてほぼ正常値を維持している。測定した脳のアミノ酸-グルタミン酸，アスパラギン酸，グルタミンーの比放射能はグルタミンが最も高く，ついでグルタミン酸，アスパラギン酸の順である。グルタミンは，グルタミン酸の約2.4倍も高い比放射能を持つ。この様に代謝産物が代謝前駆物質より高い SA を持つことは，Berl, Lajtha and Waelsch, (1961)の指摘したグルタミン酸代謝の compartment を示すものであると考えることができる。

次に脳内遊離アミノ酸の SA を血液グルタミン酸のそれと比較すると（表 5），グルタミン酸は0.58±0.089%（7 例）となった。これは灌流60～90分間の血液グルタミン酸の脳内とりこみの割合を示している。

L-グルタミン酸-^{14}C(U)を含む灌流血が脳内に入りはじめて10分後に採取した脳静脈血には，すでにラベルされたグルタミン，グルタチオン，炭酸ガスが検出される。それらは灌流時間を経過するにつれて，炭酸ガスについてはほぼ直線的に，又グルタミン，グルタチオンについては曲線を描いて60分まで増加する（図3，4，5）。ラベルされたグルタチオンの流出は，グルタミンよりやや遅い傾向がみられた。脳内にとりこまれたグルタミン酸が，脳内において，クエン酸サイクルをまわって好気的に代謝され，炭酸ガスを生じ，また，グルタミン，グルタチオンなどに代謝され静脈血中に放出されている様子がわかる。静脈血中に放出された放射性炭酸ガスの炭素原子あたりの SA の血液中グルタミン酸の炭素原子あたりのそれに対する比較的比放射能（RSA）はグルタミン酸-^{14}C(U) 投与後約60分でほぼ1%を示した（図 3）。3 例の実験においては，これが同一実験の脳内グルタミン酸の同じくRSAを凌駕する場合がみられた（表 6）。

脳静脈血中のグルタミンの SA を脳内グルタミンのそれと比較すると，静脈血液中のグルタミンは脳のそれの十数倍の SA をもつ（表 7）。このことはグルタミンがグルタミン酸から合成されることを考えるならば，脳内の限局されたプール内で，高い SA をもつグルタミン酸，すなわち，血液中より摂取されたグルタミン酸が，グルタミンを生じ，それが脳内グルタミンにまざって均一化されることなくすみやかに静脈血液中に放出されているためと考えられる。

脳静脈血中のグルタミン酸-^{14}C(U) の SA は動脈血のそれとほとんど差がなく（図 6），脳より静脈血中に非放射性のグルタミン酸が流出しているとしても，その量は実験誤差以内である。

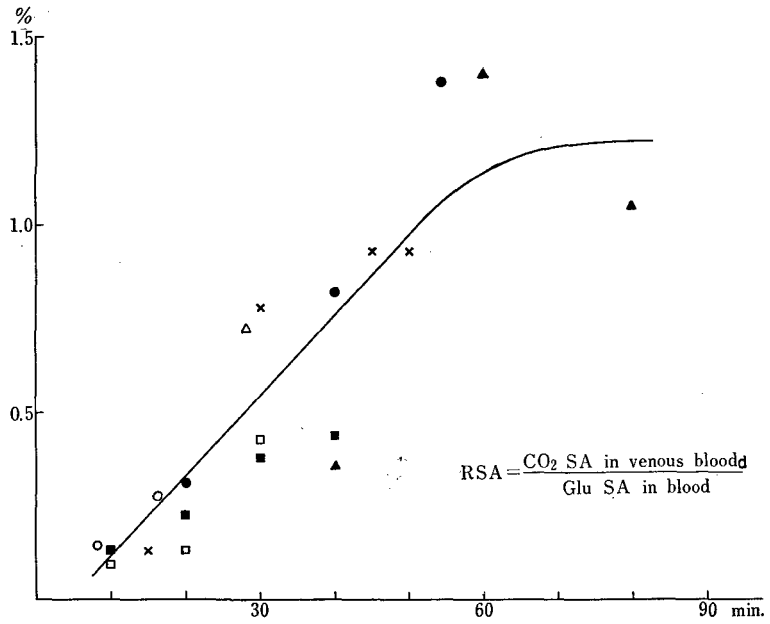


図 3 灌流静脈血中炭酸ガスの RSA

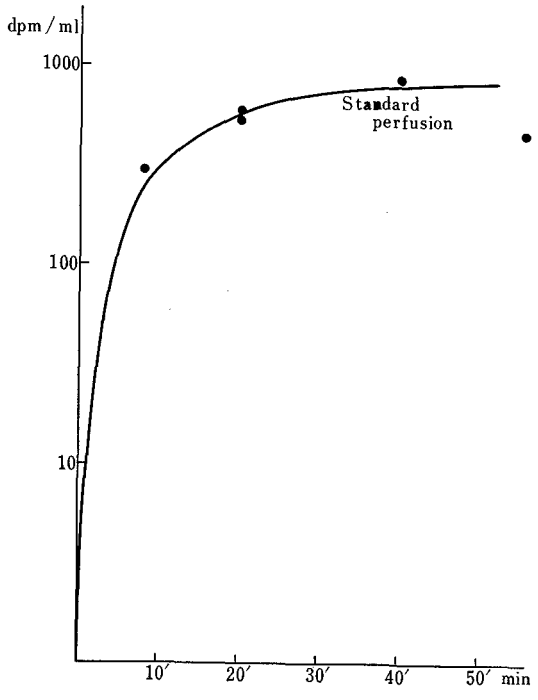


図 4 Glutamine in venous blood (dpm/ml)

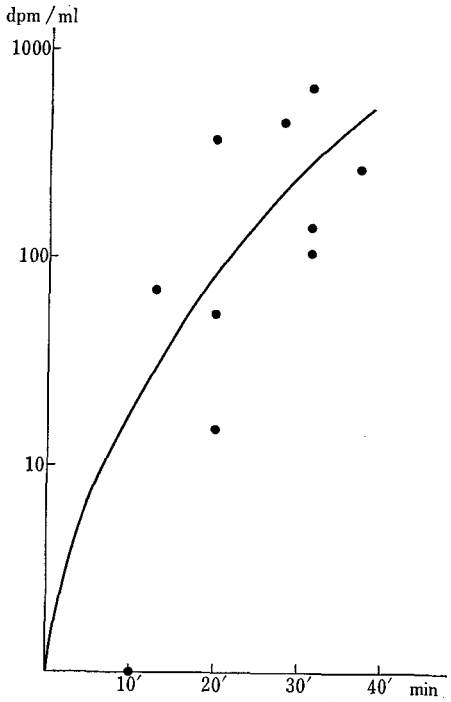


図 5 GSH in venous blood (dpm/ml)

グルタミン酸の脳内侵入 Influx の計算; 表4の実験結果を使用して，表8に示すように各実験の血液グルタミン酸の SA を20,000dpm/μmoleとした場合の脳，血液のグルタミン酸，グルタミンの SA から，脳に入るグルタミン酸が，脳中にグルタミン酸の形でそのままとどまるものと，グルタミンとなって脳中にとどまるもの，グルタミンとして静脈血中に遊出されるものとのそれぞれの割合を計算した。この計算において，脳のグルタミ

表 6 脳静脈血炭酸ガス SA の血液グルタミン酸 SA に対する比較

NO	min	RSA-1	RSA-2
2	28	0.51	0.725
6	54	0.71	1.39
7	60	0.502	1.40

RSA-1 : RSA of brain glutamic acid
RSA-2 : RSA of blood CO_2

$$RSA=\frac{\text{dpm/carbon atomes of blood } CO_2 \text{ or dpm/carbon atomes of blood of brain glutamic acid}}{\text{glutamic acid}}\times 100$$

表 7 脳内グルタミン酸に対する脳内グルタミン，血液グルタミンの RSA。( ) 内は例数

Brain Glutamic Acid	1.00
Brain Glutamine (7)	2.45±0.815
Blood Glutamine (2)	31.8±0.54

ン酸とグルタミンの SA は30分後まで直線的に増加し，以後平衡状態を続けるものと仮定した（図4ならびに表4）。1分間に脳にはいるグルタミン酸は，脳中グルタミン酸とグルタミンの dpm/g 脳/分の値に，静脈血に遊出されるグルタミンの dpm/g 脳/分の値を加えた値，すなわち，表8のD欄の数値の和194dpm/g脳/分を動脚血中グルタミン酸の SA (20,000dpm/μmole) で除した値，すなわち194dpm/g脳/分÷20,000dpm/μmole≒0.01 μmole/g 脳/分と計算された。これは脳遊離グルタミン酸の小プールと考えられる。この中60%は脳静脈血中にグルタミンとなって排泄され，脳内にグルタミン酸およびグルタミンの形で残るのはそれぞれ20%にすぎない。次に同じ血液成分の灌流法を使い，グルコース-^{14}C(U) を用いて行なった実験結果から(二宮，in preparation)，灌流60分で脳内グルタミン酸はグルコースに由来するものがその70%を占める。脳内グルタミン酸が均一な割合で放射性グルタミン酸といれかわるとするならば，グルコースが1分間に脳内グルタミン酸となる割合は

$$0.70\times\frac{1}{60}\times 8=0.09$$

大約 0.09μmole/g 脳/分である。これを脳内遊離グルタミン酸の大プールとするならば，脳内遊離グルタミン酸の大プール対小プールは 9 : 1 の割合となる。

III. 考　　察

1. L-グルタミン酸-^{14}C(U) 灌流脳の脳内アミノ酸

標識化合物の SA を実験時間を通じて一定に保ちながら，15～95分の間ネコ脳を灌流した場合に，脳内遊離アミノ酸の放射能分布をみると，グルタミンの SA は，グルタミン酸の約2倍あり，アスパラギン酸の SA はグルタミン酸のそれよりはるかに少ない結果である。グルタミン酸-^{14}C を大槽内に投与した Berl, Lajtha and Waelsch, (1961) または直接的に散布した Potter and Van Harreveld, (1962) においても，ごく短時間の実験で，同様の傾向がみられた。すなわち，グルタミン酸とGSH がほぼ同じ SA をもち，グルタミンはグルタミン酸より高く，GABA はグルタミン酸より SA が低かった。また，放射性アスパラギン酸を用いてネコ脳灌流した場合 (Gombos, Geiger and Otsuki, 1962) には，灌流時間100～200分の間では，アスパラギン酸の SA が最も高いが，グルタミンの SA はグルタミン酸を凌駕している。これに反して，グルコース-^{14}C(U) を静脈内投与した場合には，上記と著しく異なり，実験時間30分では，グルタミンが最も低い SA を示している (Cremer, 1964; Gaitonde, Dahl and Elliot, 1965)。血液中の標識化合物の SA が，実験時間を通じて一定に保たれている場合と，1 回だけの静脈内または腹腔内投与とでは，脳内アミノ酸の標識化合物の分布も異なり，また代謝速度がそ

表 8 L-グルタミン酸-^{14}C(U) 灌流時の血液，脳のグルタミン酸，グルタミンの比放射能

	A	B	C	D	E
	μmole/g	dpm/μmole	dpm/g/30min	dpm/g/min	μmole/g/min
Blood Glu		20,000			
Glu(NH_2)	0.03*	4,000		120	0.006
Brain Glu	8.0	120	960	32	0.002
Glu(NH_2)	5.0	250	1,250	42	0.002

* μmole/g/min.: 静脈血中遊出量
A, B 欄は表4の代表値
$C=A\times B$
$D=C\times\frac{1}{30\text{min.}}$
$E=D\times\frac{1}{20{,}000\ \text{dpm}/\mu\text{mole}}$

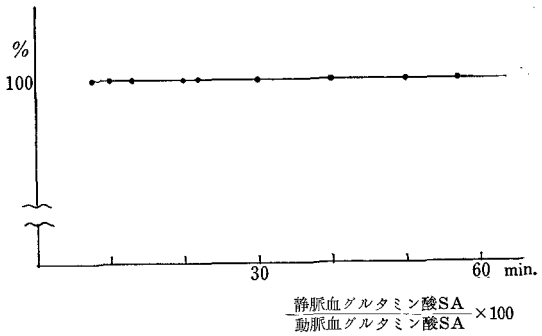


図 6 灌流血液グルタミン酸の比放射能

れぞれのアミノ酸で相違しているために，脳を採取した実験時間によってもその結果が変わってくると思われ，同一には論じられないが，上記のように脳内アミノ酸の放射活性の分布は投与した放射性物質がグルタミン酸である場合と，グルコースの場合とではまったく異なっていることは興味深い。このことは Cremer が指摘するごとく，少なくとも2つの代謝経路を考えねばならない。ひとつには，血液よりグルコースが脳内にとりこまれた場合であり，ミトコンドリアに局在するクエン酸サイクルをすみやかに回ってグルタミン酸が生成され，GABA が生じる。次にグルタミン酸がとりこまれた場合には，グルタミン合成酵素の局在する小さな active compartment において，グルタミン酸よりグルタミンが比較的多く生成されるのであろう。大月 (1966, b) は簡明な図を示し，前者はより多く脳の機能調節に関与し，後者は脳の構造を保つことが主な役割であろうと推察している。

測定した脳内アミノ酸（グルタミン酸，アスパラギン酸，グルタミン）は，灌流時間103分に及ぶ実験においても，さらに短時間の実験と同じく，ほぼ生理的濃度を保持している。灌流血液中にグルタミン酸または，必須アミノ酸がない単純血灌流においてはグルコースがじゅうぶんに含まれていても，これらのアミノ酸が低下することが知られている（大月，1966, a)。本実験で示された灌流60—90分間におけるグルタミン酸の血液より脳内へのとりこみは，脳内グルタミン酸のわずか0.6%であり，脳のグルタミン酸量が正常値を保つことは血液からグルタミン酸が直接的に供給されるためとは考えられない。グルタミン酸または必須アミノ酸が灌流血液中にない場合，灌流時間 60 分で，脳内グルタミン酸の濃度は 4.5 μmole/g 脳にまで下がる（大月，1966, a)。それらが含まれている場合は，ここに示したように 8.0μmole/g 脳に保たれている。この差 3.5μmole/g がすべて血液のグルタミン酸そのものに由来するものと仮定するならば Influx=3.5μmole/g 脳/時となる。血液グルタミン酸の SA は約20,000であるので1時間後に血液由来のグルタミン酸が脳内に存在すると仮定すれば，脳内のグルタミン酸の SA は，約 8,700 なければならない。実際にラベルされたグルタミン酸が脳で代謝されてグルタミンに転換されたり，静脈血中にグルタミンなどとして放出されるために失われるが，これらの値を差引いても差程の影響はない。実測された灌流1時間後の脳内グルタミン酸の SA は，50～200である。したがって，グルタミン酸，必須アミノ酸を含む人工血液による灌流脳の遊離アミノ酸の保持は血液のグルタミン酸に直接由来しているものばかりではなく，血液中にそれらが含まれることによって間接的に影響を受ける他の機構に関与しているものと考えることができる。Roberts and Morelos (1965) は，成熟ラットを4日間，フェニルアラニンとチロジン欠乏食で飼育したところロイシンの代謝に変化を認めた。すなわち，L-ロイシン-^{14}Cが脳内で，dicarboxylic amino acid にかわる反応は，フェニルアラニンとチロジン欠乏食で飼育したラットでは最も遅かった。これらのことは，脳内アミノ酸代謝が血液内アミノ酸の組成または，濃度に影響されることを示している。

2. 脳内遊離アミノ酸の代謝的 compartment

灌流血にL-グルタミン酸-^{14}C(U)を添加して，ネコ脳灌流を行なった場合，15～95分の間では，脳内遊離グルタミンの SA は，グルタミン酸のそれよりも高く，ほぼ2倍であった。また，脳静脈血中のグルタミンの比放射能は，脳内グルタミンのそれの約15倍を示した。このように標識化合物投与後95分以内において，グルタミンがその前駆物質であるグルタミン酸より高い SA をもつことは，当初 Lajtha, Berl and Waelsch, (1959) がグルタミン酸-^{14}Cの静脈内投与後短時間の実験で観察し，続いて彼ら (Berl, Lajtha and Waelsch) が 1961 年に詳しく記載した。彼らはこの現象をアミノ酸代謝の compartment という概念で説明しようとした。

すなわち，Berl et al (1961) は，「脳内のグルタミン酸に比較して，脳のグルタミンの SA の高いことは，組織中にある全量に薄まる前にグルタミン酸の高い SA の一部がグルタミンに変わったことを意味する」と結論した。Berl, Takagaki et al (1962) も酢酸アンモン-N^{15} の頸動脈内 infusion 法を用いて，8～25分の実験時間で脳内アミノ酸に N^{15} の組み込みをみた場合にも，この現象を明らかにとらえている。このほか，GABA (Berl et al, 1961; Gaitonde et al, 1965; Cremer, 1964) GSH (Berl et al, 1961) についてもこの現象がみられるという。グルタミン酸-^{14}C灌流後10分ですでに静脈血中のグルタミンに有意な放射能がみられ，グルタミンの SA は脳内に比して，脳静脈血中において著しく高い(約15倍)。計算によれば脳内にとりこまれたグルタミン酸の中60%はグルタミンとなって脳静脈血中に放出されており，脳内にグルタミン，グルタミン酸としてとどまるのはそれぞれ20%にすぎない。このことから，その compartment は血管より到達されやすいところにあるか，または血管より到達されやすい機構をもっていて，代謝的に活発な compartment で高い SA をもつグルタミン酸より生成されたグルタミンが，脳内グルタミンにまざり合う前に，すみやかに血中に遊出していると想像される。

グルタミン酸の代謝的 compartment と脳組織の構造，細胞内顆粒との関係は，血液脳関門の形態学的基礎

づけとともに興味のある問題である。

植村 (1963), Salganicoff and Roberts, (1965) はグルタミン酸代謝に関連した酵素の細胞内局在についてしらべ，グルタミン酸脱水素酵素は純粋にミトコンドリア酵素であるが，グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼは，ミトコンドリアと上清分画に主として存在している。グルタミンに関するものでは，グルタミン合成酵素は主にミクロゾーム分画と上清分画にあり，グルタミナーゼは粗ミトコンドリア分画にあることを認めている。血液グルタミン酸からすみやかに生成される脳グルタミンはこのミクロゾーム分画，すなわち endoplamic reticulum に局在するグルタミン合成酵素によって生成されたものであろう。グルタミン酸からグルタミンの合成は ATP を消費する反応である。一方，グルタミン酸などアミノ酸の細胞内への輸送もまたエネルギーを必要とし，K^+の細胞内へのとりこみをともなっており，この機構に Na^+—，K^+—activated ATP ase の活性が関係するものと考えられている。血液から到達されやすい限局したグルタミン酸の代謝プールで，グルタミンの合成と遊出，ATP ase 活性と無機イオンの態度などの関係，これらと血液脳関門との関係はきわめて興味のある問題である。

本実験の脳静脈血中の炭酸ガスは灌流時間とともにその放射能を増し，54分の灌流時の炭酸ガスの SA は血液中グルタミン酸の SA に対する比較的比放射能 (RSA) が1.39%となる。同一実験の脳内グルタミン酸の RSA は0.71%である。このように脳静脈血中の炭酸ガスが，前駆物質であるところの脳内グルタミン酸の SA より大きい SA をもつことは注目に値する。Gombos ら (1963) のアスパラギン酸を加えた灌流実験でも，炭酸ガスの比放射能が脳のアスパラギン酸の比放射能にほぼ等しいか，ときにはそれを凌駕することを認め，これを使用したアスパラギン酸-^{14}C標本の各炭素原子のもつ放射能が均一でないことから起こった現象であろうと説明している。ここで用いたグルタミン酸-^{14}Cが同様に放射能の，randomization がないということは証明していないが，むしろ血液中に存在するアミノ酸が脳にとりこまれるとき血液から到達しやすい代謝プール内で，呼吸炭酸ガスとなり，これが全脳の炭酸ガスと混じて稀釈される前に静脈血中に流出する可能性がじゅうぶん考えられる。ここでグルコース-^{14}Cを灌流した実験で脳内グルタミン酸などの炭素鎖がほとんどすべて血中グルコース炭素に由来する場合においても，静脈血中の炭酸ガスの炭素原子の約50%はグルコース以外の物質に由来している（大月 1966, a)。このアミノ酸の比放射能と静脈血中の比放射能との相違は血液中のアミノ酸などから生ずる炭酸ガスが，すみやかに静脈血中に流出すると考えることによって，ある程度説明できるのではなかろうか。

3. アミノ酸の血液—脳間の輸送

脳には血液脳関門といわれる機構が存在することが知られており，血中物質のあるものに対して，脳へ移行するのを制限している。この関門はアミノ酸に対しても存在しており，血液内グルタミン酸の濃度をあげても，脳内グルタミン酸，グルタミンの有意な上昇はみられない (Schwerin, 1950)。このことはプロリン (Dingman and Sporn, 1959)，リジン (Lajtha et al, 1958)，ロイシン (Lajtha and Toth, 1961) においても同様である。チロシン(Chirigos es et al, 1960)，グルタミン (Waelsch, 1951) は比較的そのとりこみが抑制されないようである。近年アイソトープ技術の導入によって，血液-脳間のアミノ酸の交換反応がかなりすみやかに行なわれていることが明らかとなった。Lajtha ら (1957) によれば，脳の遊離リジンの半分は1時間以内に血液リジンによっておきかわる。同様なことは，ロイシン (Lajtha, 1959) またはグルタミン酸 (Lajha et al, 1959) についても認められている。灌流条件においても，血液-脳関門が保たれているために，脳内に高濃度に存在する遊離グルタミン酸が血中に遊出したり，また血液グルタミン酸が脳内に直接大量に移行することはなく，ほぼ生理的な範囲において血液-脳間に交換または輸送が行なわれている。そして，灌流実験15～95分において，脳内グルタミン酸のうち，直接血液に由来するものは0.6%となる。Gombos ら(1963)によると，アスパラギン酸-^{14}Cを加えた灌流実験においては，100～190分の灌流実験で，脳内アスパラギン酸の SA は，血液中のそれの 0.77～2.4 %にあたると報告している。この数値は本実験のグルタミン酸の場合よりやや高いが，近い値であるといえよう。ともに脳内に多く存し，グルコースより脳内に新生されうるアミノ酸である。このようにわずかではあるが脳内のグルタミン酸，アスパラギン酸は，血中のそれらと互いにたえず交換または輸送されていることがわかる。この割合については，血中の標識化合物の SA を一定に保った場合に，グルタミン酸の influx を計算して0.01 μmole/g脳/分の値を得た。これはグルタミン酸がグルタミンとなり，脳静脈血中に放出される過程のみを考えたものであり，他の GABA, α-oxo-グルタール酸，アスパラギン酸，GSH, 炭酸ガスなどへの経路は考慮に入れていない。したがって，この速度は influx の最小値と考えられる。Lajtha ら (1959) は 0.001～0.027 μmole/g 脳/分の値を上げているが，著者の成績もこの範囲に含まれており，またその大プールの大きさ対小プールの大きさの比は，Garfinkel (1962) の電子計算器を用いて，Lajtha

のデータを数学的に処理した値と近似している。脳に大量に存するグルタミン酸の多くは主として血液よりとりこまれたグルコースより，クエン酸サイクルを介して新生されていることがわかっている (Sky-Peck et al 1956, 1966; Flexner et al, 1958; Vrba et al, 1962; Barkulis et al, 1960) また，Geiger (1962) によれば，グルコースのネコ脳灌流実験において，脳内グルタミン酸の SA は，血液中グルコースの SA の34%にあたるという。このことから，脳内遊離グルタミン酸は血中グルタミン酸，グルコース以外の物質より由来するものがある可能性が推察される。この程度は，脳の機能状態と密接に関係していると考えられ（二宮，in preparation)，今後の研究をまたねばならない。

静脈血中に放出された labelled CO_2 の SA の，動脈血中グルタミン酸の炭素原子あたり SA との比 (RSA) は，実験時間60分で約１%となる。L-ロイシン-^{14}C(U) (Watanabe et al, unpublished observation)，L-アスパラギン酸-^{14}C(U) (Gombos et al, 1963) を加えて行なった灌流実験でもほぼ同様の値を得ている。グルコースに由来する呼吸炭酸ガスの RSA は40%であり，Geiger (1962) は30%と述べているが，グルコース以外の物質に由来する60～70%の中で，前述の呼吸炭酸ガスの代謝 compartment の存在も考慮して幾分かは血中アミノ酸の炭素原子から由来するものであることは，疑いのないところである。

終わりに，奥村教授の御指導，御校閲に深く感謝いたします。また御教示，御鞭撻をいただきました大月講師，渡辺講師，ならびに実験にあたって御援助をいただきました引地博士，森光，枝松，帆秋，二宮，光信，三宮医学士に厚くお礼申し上げます。なお，本実験は財団法人慈圭会精神医学研究所で行なわれたものであり，所長伊原博士をはじめ所員のみなさまに感謝いたします。

文　献

1) Baker S. B.: *J. biol. Chem.* **138**, 535, 1941,
2) Barkulis S. S., Geiger A., Kawakita Y. and Agular V.: *J. Neurochem*, **5**, 339, 1960.
3) Berl S. and Waelsch H.: *J. Neurochem.* **3**, 161, 1959.
4) Berl S., Lajtha A. and Waelsch H.: *J. Neurochem.* **7**, 186, 1961.
5) Berl S., Takagaki G., Clark D. and Waelsch H.; *J. biol. Chem.* **237**, 2562, 1962.
6) Chirigos M. A., Greengard P. and Udenfriend S.; *J. biol. Chem.* **235**, 2075, 1960.
7) Conway E. G. (1957) 石坂音治訳，南江堂
8) Cremer J. E.; *J. Neurochem.* **11**, 165, 1964.
9) Dingman W. and Sporn M.B.: *J. Neurochem.* **4**, 148, 1959.
10) Flexner L. B., Flexner J. B. and Roberts R. B.: *J. Cell. & Comp. Physiol.* **51**, 385, 1958.
11) Gaitonde M. K., Dahl D. R. and Elliot K. A. C.: *Biochem. J.* **94**, 345, 1965.
12) Garfinkel D.: *J. Theoret. Biol.* **3**, 412, 1962.
13) Geiger A. and Magnes J.: *Amer. J. Physiol.* **149**, 517, 1947.
14) Geiger A.: Neural Physipathology (ed. Grenell R. G.) p. 310. 1962. Harper & Row, New York.
15) Gombos G., Geiger A. and Otsuki S. *J. Neurochem.* **10**, 405, 1963.
16) 池田久男： 精神経誌. **63**, 611, 1961.
17) Lajtha A., Furst S., Gerstein A. and Waelsch H.: *J. Neurochem.* **1**, 289, 1957.
18) Lajtha A.: *J. Neurochem.* **2**, 209, 1958.
19) Lajtha A., Berl S. and Waelsch H.: *J. Neurochem.* **3**, 322, 1959.
20) Lajtha A.: *J. Neurochem.* **3**, 358, 1959.
21) Lajtha A. and Toth J.: *J. Neurochem.* **8**, 216, 1961.
22) Lajtha A. and Toth J.: *J. Neurochem.* **9**, 199, 1962.
23) 森光淳介： in preparation.
24) Natelson S.: *Am. J. Clin. Path.* **21**. 1153, 1951.
25) 二宮淳明： in preparation.
26) 大月三郎： 神経化学, **5** (Suppl.) 40, 1966.
27) 大月三郎： 代謝, **3**, 460, 1966.
28) Potter R. L. and Van Harreveld A.: *J. Neurochem.* **9**, 105, 1965.
29) Roberts S. and Morelos B. S.: *J. Neurochem.* **12**, 373, 1965.
30) Rosen H.: *Arch. Biochem.* **67**, 10, 1957.
31) Saifer A. and Gerstenfeld S.: *J. Lab. Clin. Med.* **51**, 448, 1958.
32) Salganicoff L. and De Robertis E.: *J. Neurochem.* **12**, 287, 1965.
33) Schwerin P. and Bessman S. P.: *J. biol. Chem.* **184**, 37, 1950.
34) Sky-Peck H. H., Pearson H. E. and Wisser D. W.: *J. biol. Chem.* **223**, 1033, 1956.
35) Sky-Peck H. H., Rosenbloom M. C. and Winzler R. J.: *J. Neurochem.* **13**, 223, 1966.
36) 植村慶一： 生化学, **35**, 880, 1963.
37) Vrba R., Gaitonde M. K. and Richter D.: *J. Neurochem.* **9**. 465, 1962.
38) Waelsch H.: *Adv. Prot. Chem.* **6**, 301, 1951.
39) Watanabe S., Gombos G., Kurahasi K. and Abood L. G.: unpublished observation.
40) 渡辺昌祐： 精神経誌, **63**, 1146, 1961.

第9回神経化学懇話会口演要旨 I

昭和41年10月7・8日
於北御堂本願寺別院講堂（大阪）

1. 脳アセチルコリンの新抽出法

融　　道　男（東京医歯大・神経）
M. H. Aprison（インディアナ大・生化）

(1) 脳の total ACh を完全に抽出する新しい方法を考案した。

(2) 小脳，橋，延髄を除く成熟ラット全脳の ACh 値は，この抽出液：15%1N 蟻酸—85% acetone によると 31.2±15mμM/g であり，これは同じ脳組織を用いて acid-alcohol で測定した値の144%にあたる。

(3) この高濃度は，抽出中の ACh 合成によるものではなく，又 ACh 以外の物質の干渉によるものではないことが確かめられた。測定された物質は，薬理学的，及び paper chromatography により ACh であると同定された。

(4) 現存の二つの抽出法 10%TCA 及び acid-alcohol 法による添加 ACh の回収率は，それぞれ 54.4±9.5% 72.8±10.7%であり，新しい抽出法では 97.9±9.7% であった。

(5) acid-alcohol による脳抽出液中には，不活性の ACh complex があることが，新抽出液による再処理実験により証明された。pH6.6 で加えられた ACh は，acid-alcohol 抽出液中のある物質によって一部とりこまれることが示された。

質問　額田　忠篤（阪大・医・高次研）

結合型 ACh を遊離するのに Whittaker らがやっている様な pH4.0 でする方法と比べて新抽出法での回収率はどうですか。

答え　Whittaker らの方法は細胞分画したものについて行なっているので直接比較できない。

質問：額田　忠篤（阪大・医・高次研）

抄録によると chromatography での ACh の分離は非常にきれいですが，Hosein の言っている ACh-like substance といったものは分離されませんでしたか。

答え：Hosein らの抽出法では，一時 pH を8.5～9.0 に合わされる過程を含んでいるので，ACh が水解される可能性がある。又，かれらの抽出は TCA が用いられているが，TCA を用いると ACh が TCA と complex をつくって，spot が2個になる特徴があり，これらの点でかれらの方法は技術的に問題があると考える。

質問：柿本　泰男（阪大・医・神経）

定量値の再現性は他の方法とくらべてどうですか。

答え：新抽出法では 31.2±1.5mμmoles/g で5% 以内の標準偏差です。

質問：成瀬　　浩（国立精研）

Lipid あるいはその関連物質に結合している ACh をアセトンがよりよく抽出するとすると，アセトンよりより複合脂質，抽出力のつよいアルコール：エーテルあるいはクロロホルムとギ酸あるいは酢酸とをまぜたものを使ったらどうか。

答え：氷酢酸＋エタノールの酢酸の濃度を変えてやってみたが，最終の抽出液中に残った酢酸のモルモット回腸への影響を除くことが難かしかったため成功しなかはった。又他の有機溶媒もアセトンに比べて最終的に除きにくいという点からより優れているとは考えられなかった。

2. 鳥脳のカテコールアミン代謝，(2)モノアミンオキシダーゼ（MAO）の特性

十河　孝博・高橋　　良
（東京医歯大・神経）

(1) ハトの脳 MAO に関する実験成績とラットのそれを比較しながら MAO の多様性（multiplicity）について検討した。

(2) 実験方法はハトとラットの10%脳ホモジネートを用い，各基質についての MAO 活性を Cotzias の方法を modify したもので測定した。しかしノルアドレナリンを基質にした場合拡散段階で分解しアンモニアを発生させるので，更に改良を加えた。

(3) ハト脳における各基質の MAO 活性をラットのそれと比較するとチラミン（Ty）とドーパミン（DA）

の MAO 活性はハトが高く，ノルアドレナリン (NA) とセロトニンの活性はラットの方が高かった。この様に基質によってハトとラットの脳 MAO 活性値は変動した。いずれも有意差検定で $P<0.001$ をもって動物差を認めた。基質濃度の展開による活性曲線をみると Ty の活性曲線はハトで特長的であったのに対し MA の活性曲線は両動物ともに他の基質の活性曲線にくらべ特異的であった。その曲線から MAO は NA に対して何らかの調節能をもつ可能性が考えられた。又 NA の活性値はハト，ラットともに他の基質の活性値にくらべ低い値を示し，MAO 阻害剤による inhibition でも他に比し一番強い抵抗を示した。又 Tranylcypromine を阻害剤としてでなく，基質として用いる場合，アンモニアを発生するが，そのアンモニア発生は MAO 阻害剤によって抑えられる事から Tranylcypromine は MAO により酸化的脱アミノ化を受け，かつ Tranylcypromine が他の阻害剤即ち Nialamide や isocarboxazid と共通の active site (部分的) に働くことが示された。以上の実験結果から MAO の多様性或は active site の多様性について論じた。

質問：上条　一也（昭和大・医・第二薬理）

われわれはラット脳ミトコンドリアよりコール酸，硫安分画により約12倍に部分精製した MAO を得ている。この酵素を使用してもアドレナリン，ノルアドレナリンに対する活性は非常に低い。

答え：どうもありがとうございます。

質問：永津　俊治（愛知学院大・歯・生化）

アルデヒド脱水素酵素を添加してその影響をみたことがあるか。

答え：これを用いて実験しておりませんが，今後検討しなくてはならないと思います。

質問：額田　忠篤（阪大・医・高次研）

MAO 標品として 0.32 M 蔗糖の homogenate という粗標品を用いておられるが，MAO はご存知の様に mitochondria 分画にあり，私共の実験では mitochondria を等張のショ糖で振ると noradrenaline は非常に基質になりにくい。しかし，一見 mitochondria の構造を超短波などでこわすと noradrenaline が非常に基質となりやすくなる。即ち，mitochondria の膜の透過性が基質特異性を調節しているのだろうと考えました。従って粗標品で基質特異性を云々するのは色々な因子が加わってむつかしいと思います。

答え：今後の問題としてこの実験結果を手掛りに実験を進めたいと思います。

質問：柿本　泰男（阪大・医・神経）

1) MAO 活性を NH_3 で測定した理由，また substrate なしで NH_3 の産生量は。

2) mitochondria の性状，MAO以外のアミン分解酵素などが，種属によってことなるので，示されたデーターからでは MAO の種属特性が異なると考える証拠としては不充分であると思う。

答え：1) MAO の測定法にはいろいろあるが，微量拡散定量法で NH_3 を測る方法はかなり精度が高く，4つのアミンの MAO 活性を同じ方法で測定できるので比較しやすいことなどが理由です。

2) 1) のことと関連しますが，一定の実験条件で行ないましたし，基質濃度がかなり高いですから，MAO 以外の酵素のゆきは無視できると思います。

質問：金沢　　彰（阪大・医・神経）

1) ラット以外の哺乳動物ではどうですか。

2) 鳥の脳を用いる理由は何でしょうか。

答え：1) 検討しておりませんが，哺乳動物の中でもラット，マウス，ネコ，などで基質により活性がかなりちがうことは他にも報告があります。

2) 更に次の段階へ進むための基礎実験としてハトを選びました。

3. 脳の Carnitine 定量法の吟味

斉藤章二・松本茂信
徳永友喜子（慶大・医・薬理）
木原弘二
（慶大・医・分子生物）

動物組織に存在する Carnitine が，リポイド代謝，ひいては糖質代謝の調節因子として動いていることは，すでに二，三の文献にでている。

われわれは，動物脳の Carnitine が脳機能といかなる関係にあるかを調べてみた。これまで Carnitine の定量は，ほとんど bromophenol blue 法によって行なわれていたが，この方法は操作中の acetyl 化の煩雑さなどで万人の行ないうるものではない。そこでわれわれは，Sass らの原理に基いて，アコニット酸無水物が第3および第4級アミンと結合して，特有の発色物質を生ずることを応用し，Carnitine の新しい定量法を考案した。液体シンチレーションカウンターを併用してその定量について吟味し，マウスの脳，その他における Carnitine の定量を行なった。

質問：植村　慶一（慶大・医・生理）

C^{14} ロイシンを用いて，H^3 カルニチンとのカラムクロマトでの分画パターンが出ておりますが，他の酸性アミノ酸でカルニチンと重なって溶出される可能性はないでしょうか。

質問：柿本　泰男（阪大・医・神経）

1) 定量法の特異性について primary amine が反応にかかるとすれば脳内に大量に存在するアミノ酸がカラムクロマトで完全にのぞかれているとは考えられないので，特異性についてのご検討がのぞましい。

2) 文献の脳内カルニチン量の報告値よりも高いように考えられるが，特異性にまだ問題があるのではないかと思いますが。

答え：1) この新しい方法は簡単かつ確実で，従来の方法に較べてすぐれている。しかしアミノ酸のような primary amines は，Sass らも報告し，私共も確めたように，3級，4級に較べてアコニット酸無水物との反応が弱く問題にならない。このことは図5の結果からも分る。

問題は，betaine と Carnitine の分離ですが，新法では完全に分けることができた。

2) 脳の Carnitine の値が，少し高いのは事実です。Dowex50×12 で行なえば，さらに確実な値がえられる。

4. 人脳内および動物組織のホモカルノシンの定量

金沢　彰・宮本英七
公文　明・佐野　勇
（阪大・医・神経）

ホモカルノシン（γ-アミノブチリル-L-ヒスチジン）は中枢神経系にのみ存在すると考えられている。Abrahamらは人脳灰白質にくらべ白質はこのペプチドを高濃度にふくむと報告した。しかし著者らは予備実験でこれらの報告を確認しえず，視床，視床下部，小脳により高濃度に存在することを知った。この観察をたしかめるために，脊椎動物脳，人脳でのホモカルノシン濃度を測定した。

3～10g の組織をエタノールで除蛋白し，上清を陽イオン交換樹脂で脱塩後，塩基性アミノ化合物分画を得た。減圧乾固後，残渣を一定量の水にとかし，高圧沪紙電気泳動（0.1M硼酸緩衝液，pH10.0）を4000 V，1時間行なった。この条件でホモカルノシンはカルノシン，ヒスチジンと分離するので，ホモカルノシンを含む沪紙の部分を切りとり，試験管内でパウリ反応によりホモカルノシンを定量した。

ホモカルノシンの人脳内分布を5例の急性死亡例の脳を用いて検討し，視床，視床下部，小脳に高濃度に存在し，脳梁に最も少ないことを知った。白質と灰白質における濃度差はほとんどなかった。検討した動物のうち，ラッテ，モルモット，家兎，ニワトリの脳内にはホモカルノシンが存在したが，犬，猫，およびフナ，サバなどの魚類の脳にはホモカルノシンをほとんどみとめることができなかった。家兎肝臓中にごく微量のホモカルノシンの存在を認めた。

質問：植村　慶一（慶大・医・生理）

1) 脳内分布がγ-アミノ酪酸とほぼ一致するのに，γ-アミノ酪酸の多い猫，犬で量が少ないのは，大変面白いと思います。何か説明が可能でしょうか。

2) 第1表ⅢのCO中毒脳で前頭葉，側頭葉で，灰白質の値が白質よりかなり低い様ですが，これは何か意味があるとお考えでしょうか。

答え：1) 現在説明できるような根拠はありません。犬，猫の筋肉ではカルノシンが存在するのに，脳にホモカルノシンがほとんど存在しないこと，それぞれのペプチドの前駆物質であるβ-アラニン，γ-アミノ酪酸が犬，猫の筋肉，脳にも存在することなどから，その合成に興味をもって，現在検討をすすめています。

2) 1例だけですので，その意味はよくわかりません。

質問：高橋　良（東京医歯大・神経）

脳内ホモカルノシンが犬，猫のようなdomestic animalに殆んど存在しない点は興味深いが，何か理由をお考えですか。例えば食餌の差などはどうですか。

答え：何度か犬，猫の脳を用いてたしかめている。食餌差であるかどうかは検討していない。

質問：野口　鉄也（慶大・医・生理）

この定量法の回収率の検討に家兎肝ホモジェネートを用いているが，その理由は？　脳のホモジェネートを用いた方がよいのではないか？

答え：特に意味はない。今後脳ホモジェネートを用いて回収率を再検討したい。

質問：川西　正謹（阪大・医・陣内外科）

ホモカルノシンが他のヒスチジンペプチドと分離が出来るのでしょうか。死後変化の変動について，われわれの実験ではインキュベートすると非常に分解反応が早く，むしろ減少することをみています。死後変化とインキュベーションとはことなるかとも考えられます。

答え：私たちが以前から行なっている一連の研究で，カルノシン，ホモカルノシン以外にヒスチジンペプチドはみつけていない。もし存在しても非常に少量で定量の際問題ではない。また他のヒスチジンペプチドの混在がないことは，3種の溶媒系を用いてたしかめてある。

追加：森　昭胤（阪大・医・陣内外科）

Homocarnosine と痙攣との関係についてはすでに報告しているところであり（森・川西，生体の科学**16**, 25, 1965），in vitro で ^{14}C-GABA と histidine から生成されることも明らかになったが，^{14}C-histidine をウサギの Cisterna magna に注入してもラベルされた homocar-

nosine は検出できなかった。ところが最近，われわれの共同研究者の芦田（マイアミ大学）は生後一週目のウサギの腹腔内に ^{14}C-histidine を注入したのち24時間目にラベルされた homocarnosine を検出することに成功した。しかし，そのさい，メトラゾールで痙攣をおこした場合には homocarnosine は完全に消失し，痙攣後すみやかに回復することを明らかにした。

5. ウシ脳からのN-アセチル-α-アスパラチルグルタミン酸の精製，同定および動物体内分布

宮本英七・柿本泰男
公文　明・佐野　勇
（阪大・医・神経）

Curatolo ら（1965）は家兎およびウマの神経組織についてN-アセチルアスパラチルグルタミン酸（N-Ac-Asp-Glu）の存在を推定したが，同定の証拠は不完全である。また N-Ac-Asp-Glu には α と β との2つの構造が考えられるが，彼らは天然の化合物がどちらの構造をもっているかも明らかにしていない。われわれはこれらの点を考慮してウシ脳から N-Ac-Asp-Glu を精製し酸加水分解，部分酸加水分解，ヒドラジン分解によりその構造を N-Ac-α-Asp-Glu と推定し，合成品と沪紙クロマトグラフィー，高圧沪紙電気泳動上の性質を比較することにより同定した。さらに，この化合物の動物体内分布を家兎，ラット，モルモット，ニワトリの8組織についてしらべた。この物質は脳においてのみ検出され他の組織には検出されず，存在しても1μg/g以下であった。剖検例4例の人脳についてその脳内部位別濃度を測定した。

追加：高橋　良（東京医歯大・神経）

ニワトリの Cerebrum で犬，ウマに比しこの物質が高いことは，鳥類の Cerebrum は Neocortex は極めてわずかで大部分が Hyperstriatum であることを考えると納得される。ことに ACh 様作用が云々されている物質だけに Hyperstriatum において ChA が極めて多い事実とも照合して興味がある。

質問：植村　慶一（慶大・医・生理）

1) 回収率62.5%はあまりよくないと思いますが，もっとよくならないでしょうか。

2) 最後の電気泳動のラジオオートグラフで，アスパラギン酸は除いてありますか。

答え：1) イオン交換樹脂処理を2回おこない，ついで酸加水分解後高圧沪紙電気泳動を行なってグルタミン酸を定量しているので途中のロスはさけがたい。ただ，回収率は常にほぼ一定の値がえられている。

2) 先ず，Amberlite IR 120, 100～200 mesh H^+ 型に通していますので，アミノ酸は除かれています。

質問：成瀬　浩（国立精研）

1) Auditore (Nashville) がやはりN-アセチル-アスパラチルグルタミン酸の同定をしている。Auditore はこの物質に ACh 様の action があるといっているが。

2) N-Acetyl-α, Asp へ glucose からの C^{14} の入りは非常に悪いといわれているが，報告ではかなり C^{14} が入っている。この点についてはどうか。

答え：1) ご指摘の通り Auditore らは N-Ac-Asp-Glu を人脳より分離同定し A. B. B. に発表している。しかし彼らは物質の合成を行なっておらず，α-Form という確認もしていない。予備実験の段階で α-Form と示唆しているにすぎない。最近，私信でウマの脳よりこの物質を精製し，α-Form と確認したとのべている。

2) ラットの腹腔内に C^{14} グルコースを注入しスライドの通りの結果をえたが，どの部位，即ち，アシル基かアスパラギン酸かグルタミン酸かどこにラベルされたか不明である。

質問：十河　孝博（東京医歯大・神経）

高圧濾紙電気泳動法での同定に非常に問題があると思うがどうお考えになりますか。

答え：物質の同定には高圧濾紙電気泳動のほかに濾紙クロマトグラフィー，酸加水分解（complete および，partial）ヒドラジン分解を行なっている。

6. フラビンの血液脳関門透過性と脳内 FAD, FMN の生合成

永津俊治（愛知学院大・歯・生化）
永津郁子（名大・医・解剖）
奥田　潤・八木国夫
（名大・医・第一生化）

ネズミにリボフラビン，FMN，FAD を注射すると，リボフラビンの場合は脳内フラビンが明らかに増量するが，FMN，FAD ではわずかであった。これからみるとリボフラビンが脳内にとりこまれると考えられるが，この点を明らかにするため C^{14}(2)-リボフラビンを注射して検討した。注射1時間後に脳内フラビンに著明な放射能が認められ，血液のフラビンの放射能よりも数倍高かった。脳内フラビンを分画すると FAD, FMN に放射能が検出され，両者の比活性はほぼ等しかった。しかし遊離リボフラビンは痕跡的で，放射能もほとんど検出されなかった。注射後15時間には血中フラビンの放射能はほとんど消失するのに脳内フラビンの放射能は1時間のそれと比べてあまり減少しなかった。放射能は FAD, FMN にのみ検出され，リボフラビンにはほとんど検出されなかった。以上の成績はリボフラビンはフラビンヌクレオ

て血液脳関門を通過しやすいこと，血液より脳内に移行したリボフラビンは速やかに FAD, FMN へ生合成されチドに比べれること，一たんとりこまれたものは脳内に長くとどまることを示す。

追加：出口 武夫（京大・医・医化）

私達は脳の NAD の挙動を検索して来たが，ご発表の実験結果と非常によく一致した結果を得ましたので追加します。（スライド1枚追加）

1) 血中からの NAD 前駆体のとり込みは非常に遅い。

2) しかし一旦取り込まれると非常に永い間（数日にわたって）脳内に留まっている，と言う結果が出ています。

追加：奥田 潤（名大・医・生化）

C^{14} リボフラビンをシロネズミに注射した場合，脳以外の臓器で，腎および小腸では30分～1時間に peak があるが，肝では時間の経過とともに C^{14} がとりこまれ FAD として貯えられることを認めている。

質問：永田 豊（東邦大・医・第二生理）

リボフラビン皮下注射後1時間後に脳内総フラビン，FAD，FMNリボフラビン等を測定しておられるが，もっと短い1時間以内の短時間で，各フラビン化合物がおのおのどの様な量的変化を示すかを検討されたか？

そうすればどの化合物の形で Blood-Brain-Barrier を通過するか明確になると思う。

答え：フラビン注射後1時間以内の短時間のところでの脳内フラビンの量的変化については現在検討中ですが，注射されたリボフラビンは極めて短時間内に脳内にとりこまれると考えられる成績をえている Blood-Brain-Barrier を通過するフラビンはリボフラビンの形であろうと推定しています。

7. ニコチン酸ヌクレオチドの脳細胞膜透過性とその代謝経路

出口武夫・市山 新
西塚泰美・早石 修
（京大・医・医化）

脳における NAD の生合成とその代謝回転を検索するために，C^{14} 標識のニコチン酸及びニコチン酸から NAD に至る各種中間体のラッテ脳槽内投与を行ないその動態を追跡した。その結果，ニコチン酸については（既に発表の如く） Niacin ribonucleotide, deamido-NAD を経て NAD に合成されるが，Nuclastides については特異な挙動を示すことが判かった。即ち deamido-NAD は一旦 Niacin ribonucleotide に分解され，これは更に Niacin ribonucleotide にまで分解された後で NAD に合成されていることが明らかになった。この事実について更に確証を得るため，P^{32}–C^{14} 二重標識の Niacin ribonucleotide を脳槽内に投与して P^{32} と C^{14} のそれぞれの放射能の挙動を追跡した所，C^{14} は NAD に取り込まれて来るのに対し，P^{32} は大部分が Pi^{32} として回収され NAD 中には極めて僅かしか認めることが出来なかった。この実験結果から，ピリジンヌクレオチドは脳細胞中にそのままの形で取り込まれることはなく，一旦少なくとも Ribonucleoside にまで転換された上で NAD 前駆物質として利用されていると結論出来る。これら in vivo の現象と併せて，無細胞系についての酵素活性を測定した所，脳には Phosphatase 及び Ribonucleoside kinase の活性が強いことも明らかになった。又 Nucleotide pyrophosphatase，及び Nucleotidase の活性は細胞膜系に同在しているようであり，Nucleotide の細胞膜透過性と関連を有すると思われる。

追加：永津 俊治（愛知学院大・歯・生化）

ニコチン酸ヌクレオチドは細胞膜を通過することが出来ず，ヌクレオチドに変化して通過するという成績でしたが，フラビンヌクレオチドの血液脳関門透過性についての私共の実験成績でも，フラビンヌクレオチドも全く同様にヌクレオチド型であるリボフラビンとなってから通過すると考えられる。

追加：奥田 潤（名大・医・生化）

C^{14} リボフラビン，C^{14}–FMN，C^{14}FAD をシロネズミに投与した場合，C^{14}リボフラビンは直ちに肝で FAD となるが，C^{14}FMN，C^{14}FAD の大部分は加水分解されてリボフラビンとなってから FMN を通じて FAD に生合成されることを認めている。FMN，FADの加水分解は一部は血清中でまた大部分は臓器細胞の膜に存在するホスファターゼによるものだとも考えている。

質問：谷村 憲一（新潟大・脳研・脳外科）

生化学的な問題ではないのですが，Cisterna magna に基質を注入する場合，脳脊髄液の流れに従ってまず spinal canal の方に下がり，brain surface で注入した基質が peak に達するのには5～6分必要な事が知られています。1分，2分30秒という時間で測定しておられますが，脳脊髄液の流れを止める様な操作をおこなっておられるのでしょうか。

答え：基質投与後10分以後では脳から回収される値はほぼ一定となるので，既にこの時点では脳にとり込まれるものはとり込まれてしまっていると思われます。特に脳脊髄液をとめるような処置はとらず，延髄から上の部分をすべてとり出すと言う方法をとっています。

質問：黒川 正則（東大・医・脳研）

1) Nucleotide pyrophosphatase, Nucleotidase が細

胞分画上，細胞膜系に分布していると推定される根拠について。

2) Nucleoside kinase の比活性が肝臓よりも脳で高い(第2表)ことに関連して，in vivo で Preiss-Handler 径路中の3産物を与えた場合，脳と肝臓とで処理の方法が違うと考えられる実験的根拠があるでしょうか? NaR まで分解されることが脳組織にかなり特徴的なことと考えていいかどうかです。

答え：1) d-NAD-C^{14} を基質にした場合，それを分解する酵素活性は核分画にすべて入ってきます。それ以後の分画は行なっていませんので明確なことは言えませんが，今後検討します。

2) 肝臓その他の臓器でこのような実験はしていませんが，NAD-C^{14} を血中に投与した場合，非常に速やかに Nicotinamide riboside に分解されることが明らかになっています。

8. 脳乳酸脱水素アイソザイムの研究

Ⅱ 発育過程におけるホルモンおよびアクチノマイシン D の影響

伊藤　斉・三浦貞則
森　文彦・升沢郁二
浅香富允（慶大・医・神経）

発育過程の脳 LDH isozyme の組成（主として電気泳動法による分離）は代謝要求に対応し特徴のある変動をしめすが，この調節には内分泌が関与しているものと思われる。数種の Steroids を幼若白鼠に注射すると，Predonisolone は H 型 LDH の活性を，また Testosterone および Estradiol は M型 LDH の活性をそれぞれ Control に比し増加することを認めることができた。さらに，あらかじめ m-RNA を抑制する Actinomycin D を注射しておくと，これらの Hormone の作用が阻害される。したがって，このような過程は蛋白合成によるものであると推定された。

以上の実験を肝臓についても比較検討した。

質問：寺岡　葵（熊大・医・神経）

実験動物の使用匹数は？

答え：グループによってちがいますが，だいたい10匹前後です。

質問：川北　幸男（阪市大・医・神経）

LDH isozyme ホルモンの影響をもっとも受けやすい時期に神経細胞の組織学的像はどうですか。この時期に Flexner のいう critical period に相当するような神経細胞の組織学的変化が認められますか。

答え：組織学的検索はしていません。Flexner の Critical period はラットの場合，Himwich らによると5～10日とされていますので，そのまま借用しました。

質問：公文　明：（阪大・医・神経）

他の臓器での Critical period における Predonisolone の H/M ratio への影響があると思いますが，脳に比べて ratio の変動の程度はどうですか。

答え：Estradiol→Uterus というような target のはっきりしたものは，この変化がよりはっきりします（Kaplon らの成績）。Predonisolone についても各臓器について経過を追っていけば，そのような変化がみられる段階があるのかも知れません。

質問：島津　孝（阪大・医・第3解剖）

脳の代謝は比較的一定していると考えられるのであって，恒常性を維持するための色々な仕組みが存在すると考えられます。blood-brain barrier が存在することはこの最適の例だと思います。こういう考え方からすると脳の代謝は一般には他の臓器に比べてホルモンの影響を受けにくいはずです。脳の LDH isozyme pattern が Predonisolone とか性ホルモンの影響を受けるというお仕事は以上の考え方を否定することになります。

実験に供せられたラットは幼若なもので LDH も M型から H型への転換過程にあるもので，生後14日という時期を設定してはありますが個体によってはこの転換が早いものもあれば遅いものもあるはずです。従ってホルモンの影響を調べた data の再現性という点で解釈が難かしくなってくると思います。M型から H型への転換が完了してこの両者の比が一定した成熟ラットについてホルモンの影響が認められるかどうか知りたいと思います。

9. 脳ミトコンドリアの特性，特に Mg^{++} の脳ミトコンドリアに対する作用

瀬田喜一郎・荒木　裕
小沢和恵・半田　肇
（京大・医・脳神経外科）

脳ミトコンドリア (mt) に対する Mg^{++} の効果については種々議論されているが，我々は tightly に couple した脳 mt を用いて呼吸調節能 (RC)，ADP/O 比，ATP 生成率，Mg^{++}-activated ATPase 活性に対する Mg^{++} の効果を追求したが，肝 mt においては NAD-linked の基質及コハク酸においては同じ効果を示したのに対し，脳 mt においては NAD-linked の基質の場合は著明な state-3 呼吸の促進効果が認められたが，コハク酸では認められなかった。又 DNP で uncouple した脳 mt についてもコハク酸の場合は促進効果は認められなかったが，NAD-linked の基質においては著名な呼吸の促進効果が認められ，以上のことより Mg_{++} は脳 mt においては NAD からチトクローム b の間の電子伝達を促進す

る様に働いていると考えられる。

質問：佐武　明（新潟大・医・脳研）

所謂脳ミトコンドリアは他の臓器のそれと異なりイオンに影響される色々の contamination を考慮せねばならぬと考えますが。

10. 神経系細胞核の研究

—ノイロン性と非ノイロン性核の分別分離法—

加藤尚彦・黒川正則
（東大・医・脳研）
稲村　博
（東大・医・精神）

1) 成熟モルモット脳の灰白質から4種類の核標品を分離する方法を述べた。（光顕像，電顕像を提示）

2) アセトオルセイン・ファストグリーン染色標本についてノイロン性核，グリア性核を識別する規準を述べ，分離核をノイロン性と非ノイロン性の二つに大別した。

3) えられた核標品のノイロン性核：非ノイロン性核の比は，P4I 59%：41%，P4II 51%：49%，P_L 78%：22%，P_S 4%：96%である。

4) DNA の回収率は濾過ホモジェネートにたいして P4I 29.8%，P4II 42.1%，P_L 7.5%，P_S 7.2% である。

11. 神経系細胞核の研究

—ATP：NMN アデニリルトランスフェラーゼ活性—

黒川正則・加藤尚彦
（東大・医・脳研）
稲村　博
（東大・医・精神）

1) ノイロン性核の NMN アデニリルトランスフェラーゼの活性ははグリア性核の約10倍である。このことからノイロンとグリアにおいて NAD の生合成および代謝回転の差異が存在することを推論した。

2) 肝細胞核の NMN アデニリルトランスフェラーゼ活性はノイロン性核の 1/3.5 グリア性核の 2.5 倍である。精子ではこの酵素活性は認められない。

3) 以上の知見を腫瘍細胞核，未成熟組織の細胞核における NMN アデニリルトランスフェラーゼ活性の低下と比較，特に細胞の末熟性，増殖性の点から考察した。

質問：西塚　泰美（京大・医・医化）

1) 高張蔗糖を用いる核分離の欠点は1～2の例外を除いて生物学的活性を消失することであるが，神経細胞核の場合はどうですか。蛋白合成，核酸合成活性等は何ほど保持していますか。

可能ならば生物学的活性を保っている核の分離方法を開発して下さい。

2) DPN pyrophosphorylase 活性の強弱を問題とされていますが，DPNase 活性はどうですか。核の DPNase は細胞全体の5%位とはいえ極めて強力であり Nicotinamide によっても 100% は阻害し得ません。DPNase 活性をチェックされてはいるものの，むしろ Nicotinate ribonucleotide＋ATP→deamido-NAD 活性を測定することをおすすめします。deamido-NAD は安定であり，この水解速度は極めて遅いので NaMN を基質とすればより正確な結果が得られると思います。

答え：1) 我々の核標品では，ATP：NMN アデニリルトランスフェラーゼ，RNA ポリメラーゼ（DNA 依存性）活性は保たれています。何%位の活性が保たれているかは，酵素「活性」ではなくて酵素「量」が解らなければ，正確には表現できないのではないでしょうか？ DNA や核数を規準にした酵素「活性」は抄録集に示した通りです。

2) タンパク合成能について我々の標品では調べていませんが，高張ショ糖液を用いて分離した胸腺細胞核（Mirsky ら），脳細胞核（間瀬）で，タンパク合成能が保たれていると報告されています。高張ショ糖液による活性低下は，個々の酵素活性，個々の核標品について検討すべきであり，一般的には論じ得ない問題と思われます。

3) DPNase（NAD glycohydrolase）が脳組織に非常に高いことは事実ですが，我々の核標品ではホモジェネートの1%以下（湿重量当り）の活性しか証明されません。

Jacobson-Kaplan らの結果では核分画に約 10% の活性が回収されていますが，彼等の核標品にはミクロゾームの混入が相当多いためであろうと考えます。NAA が DPNase を 100% 阻害しえないとしても，抄録集に記載した反応条件下で，DPNase が重大な障害となっているとは考えにくいのではないでしょうか？ しかし，P4II，P_S における DPNase の活性の比較は今回発表した結果と別個に検討中です。

4) 抄録集にも書いたように，ご指摘の deamido-NAD pyrophosphorylase の活性測定は現在計画中です。これによってさらに結果を確定したいと思います。

質問：佐野　勇（阪大・医・神経）

核の「診断基準」についてもう少しくわしく。

意見：中沢　恒幸（慶大・医・神経）

1) P_L 分画で問題になるのは neuronal の核と giant astrocyte の核であろう。routine による鑑別法の1つとして考えられることは標本を真空で引いて shadowing

しその angle により生ずる陰影を Planimeter で面積測定する方法は如何かと思う。

2) Ps 分画で oligodendrocyte と内皮細胞との核の鑑別は内皮細胞の原形質連鎖が切れてしまえば鑑別困難だと思う。裸の核になれば内皮細胞核が楕円型のままで維持されることはむずかしく球型になるものがかなり出てくるから。

答え：1) 形態学的な"分離核"の類別基準については，抄録集34～35頁に詳しく説明してあります。

2) ご指摘の如く，neurone の核と astrocyte の核，oligodendroglia の核と内皮細胞の裸核の区別が一番問題となる。形態学的にはこれ等の点を考慮して，抄録集に説明した如く明らかに neuronal と思われる以外のすべてのものを，non-neuronal に数えてあります。

3) 形態的な基準だけでは non-neuronal な核は同定できないので，他の biological index による同定法を考慮中です。ご指摘の中で免疫学的方法がもっとも有望と考えています。また抄録集にも書いたように化学的性質を調べることによって，逆に同定法の信頼性を確かめることもひとつの可能な立場と考えます。

質問：出口 武夫（京大・医・医化）

NAD, NMN 等の分解径路は既知のもの，未知のものを含めてかなり複雑ではないかと思われますので，NAD Pyrophosphorylase の酵素活性を測定する場合には NAD の生成と同時に NMN の減少も測定する必要があると思うのでありますが，反応前後の NMN の定量はしておられのるのですか。

答え：1) NMN 減少は見ていませんが，ご指摘のごとく調べてみたいと思います。

2) 抄録集に記載した測定条件では，「標品量」と，「酵素活性」は直線関係にありますので，定量的な活性の代表値と考えます。

質問：植村 慶一（慶大・医・生理）

1) P4II，PL，PS の各分画で RNA 量を，測定なさったでしょうか。ノイロン性核の比重が非ノイロン性のものより低いとの結果が出ていますが，ノイロン性のものは ATP：NMN アデニルトランスフェラーゼなどの酵素も多く，RNA も多くて比重の高いことが予想されるのですが，いかがですか。

2) 比較的ノイロン性核の多い PL 分画で ATP：NMN アデニルトランスフェラーゼ活性を測定なさいましたか。

3) ATP：NMN アデニルトランスフェラーゼが，色々の方法で可溶化されない点は膜酵素的ですが，核リボゾームに結合しているという報告もあり，その存在様式としてどの様なものが考えられますか。

答え：P4II のみ RNA は測定してあり，4.6～3.4μμg/核1個で，P4I とほとんど変わりません。

2) RNA は高張ショ糖液の処理により，可溶性となる可能性が高く，各標品で処理ショ糖濃度がことなることを考えると，核標品の特徴づけのために測定しても意味がないように思われます。

したがって各核標品の RNA の比較はしていません。

3) ノイロン性核と，P_S にみられる非ノイロン性核（主にオリゴデンドログリア核）とは，記載したような処理条件下では，たしかに比重が異なり，後者が高いことになります。オリゴデンドログリア核の直径は，ノイロン性核の直径の1/2とすれば，体積は1/8となります。従ってノイロン性核が例え多量の核質を含んでいても，比重としてはオリゴデンドログリア核が高いことは充分考えられると思います。

4) 抄録集の文献14) に質問の問題が論じられていますが，今後この事についても調べていきたいと思います。

12. 脳灌流法によるネコ脳代謝の研究

大月三郎・渡辺昌祐
森光淳介・枝松一安
中島良彦・帆秋孝幸
二宮淳明
（岡山大・医・神経）

脳循環を体循環から分離する Geiger 法によってネコ脳灌流を行ない，灌流人工血液に，^{14}C-グルコースを加えて脳の代謝物質への ^{14}C の移行状態をしらべた。

血液アミノ酸による脳アミノ酸濃度の調節：人工血液中に遊離アミノ酸を全く含有しない場合には，灌流脳のグルタミン酸，アスパラギン酸，グルタミンの著明な低下がみられるが，必須アミノ酸や，グルタミン酸を加えると脳アミノ酸低下は防止される。特に血液中にグルタミン酸が存在すると脳のグルタミン酸は増加することはないが，正常値を保つことが出来る。

脳代謝物質への血液グルコース炭素の移行：脳によって生成された CO_2 の比放射能は，灌流血液に必須アミノ酸があるときは，グルコースのそれに対して40% (RSA) を示し Geiger らの30%より高値を示した。

脳のグルタミン酸，アスパラギン酸のグルコースに対する RSA は灌流液中に必須アミノ酸が存在しない時は，ほぼ100%，90%，必須アミノ酸の存在する場合は，やや低値80%，90%を示した。脳の乳酸の RSA は上記アミノ酸とほぼ同値を示し，Geiger らの値50%よりはるかに高値を示した。高フェニールアラニン血症実験では，グルタミン酸，アスパラギン酸，グルタミンの RSA

は低下し，GABA のそれは上昇した。MSI を加えた実験では，グルタミン酸の RSA に対してグルタミンの RSA の著明な低下を認めた。

質問：野口　鉄也（慶大・医・生理）

1) Glucose-U-^{14}C より脳内各アミノ酸へとりこまれた RSA をみると，Ess. A. A. を加えた場合 Lactate 及び CO_2 の RSA-1 が減少するのはすべて脳内にアミノ酸がとりこまれて増量するためであるからだと理解できるのではないか。

2) 我々は脳のスライスを用いてアミノ酸の代謝に及ぼすフェニルアラニンの影響を追求した。（昨年の本会で発表）このとき GABA の代謝回転が増加していることを認めた。

答え：Ess. A. A. を加えた場合，脳アミノ酸濃度は Ess. A. A. を加えない場合より高いが，これは正常範囲を保持している結果と思われ，増量を認めていない。

質問：金沢　　彰（阪大・医・神経）

1) フェニルアラニンを灌流液中に加えた理由は？

2) フェニルケトン尿症における代謝パターンをみる目的なら，あらかじめフェニルケトン尿症を発症させるように飼育した動物をつかう必要があろう。また，フェニルアラニンの代謝産物を使うことも面白いのではないか。ご発表の条件では，フェニルケトン尿症のモデルとしては少し疑問がある。

答え：高フェニルアラニン血症は臨床的に興味ある問題でありこのときの脳の代謝パターンを検索するために灌流血液に加えたのです。

質問：成瀬　　浩（国立精研）

1) RSA を計算するとき血中のグルコースを基準とするのではなく，脳中のグルコースを基準とするべきである。例えば麻酔時には，脳中のグルコースの SA の上昇が見られるが，脳中のグルコースを基準にとればより解決がしやすくなる。

2) 第2表は，Anoxia の影響とは考えられないか。Asp. には cold CO_2 の固定がある筈だが RSA が 100 以上なのはおかしい。

答え：血中グルコースの SA よりも脳中グルコースの SA で RSA を決めるべきであることには賛成です。我々はすでに脳中のグルコースの SA を測定しておりますが，今回のデーターは Geiger のそれと比較するために血中グルコースの SA を基準にしたのです。

2) Hypoxemia の脳灌流でアスパラギン酸の RSA が高くなることを，われわれは以前に認めて報告しました。しかし，現在行なっている脳灌流実験では，脳の酸素消費は充分量でありながらアスパラギン酸の RSA がグルタミン酸のそれより高いこともあり，低いこともあり変動が大きいので，今後つづけて検討したいと思います。

13. 脳解糖呼吸の研究

（1） アミノ酸アセチルコリンとの関係

成瀬　　浩（国立精神衛生研）
永山泰男・中村陸郎（東大・医・神経）
S.-C. Cheng　（コロンビア大）

脳の病的状態の神経化学的究明の一端として，解糖呼吸系の変化と，機能変化との関連を研究しているが，今回は，呼吸系とグルタミン酸系アミノ酸アセチルコリンとの関係を報告する。先に神経系において α・KG+CO_2 →Isocit→Cit の TCA サイクル逆反応が活発であることを認め，Glu が Ach 生成の有効な基質でありうるという仮説を述べた。その実証のため，BioRex 70 のカラムにより Ach を分離する方法を確立し，90%以上の Recovery で純粋な Ach を単離した。Lobster の未梢神経での実験では，溶媒中に ^{14}C 有機酸を加え，Ach への取入れを比較した。Cit と Pyr とがほぼ同程度に有致な前駆物質であり，Glucose-1-^{14}C からも，これらの1/4程度の放射能が入ることがわかった。glu-5-^{14}C からも Ach に ^{14}C が入るが，Glu-1-^{14}C からも同様の取り入れがあり，この点今後の研究を必要とする。

DL Glu-5-^{14}C をマウス脳内に注入した実験では，投与後10分で既にかなりの ^{14}C が脂肪酸・脂質群に入っており，TCA サイクル逆反応が活発であることを再確認した。Ach への ^{14}C の入りはごく少ないが，脳の Glu 対Ach の pool size 比は1000対1であり，今後は αKG-5-^{14}C を用いての研究を必要としている。

更にこの実験において，^{14}C の分布を，glu-NH_2+GABA 群：Asp：Suc：Cit と比較すると，約30：3～4：15～20：1 という比になる。pool size は40：15：3：1 の比であり，Suc の比放射能が高いことが目立ち，Cit の比放射能も Asp に比べかなり高く，TCA サイクル逆反応の関与を示している。

質問：石川　晋次（東大・医・脳研）

α-ケトグルタル酸からクエン酸の反応はその平衡定数からいって，CO_2，TPNH，pH などの条件が適当な場合にのみおこるのではないかと考えます。実験条件下で又は in situ でそのような条件が存在するでしょうか？

答え：乳腺でも授乳中にのみ Glu-1-^{14}C から脂酸へのとり込みがみられています。(Chaikoff)。脳では，かなり TPN/TPNH の比が高いと言われていますし，Pco_2 も関係していると思います。TPN の問題は今後検討する予定です。

質問：融　　道男（東京医歯大・神経）

ACh の分離は authentic のものだけで行なわれているように読めるが，神経組織を TCA で抽出した場合，このような形で抽出されて来ない可能性はないか。ACh へのカウントの入り方の少ないことの原因の一つにならないか。

答え：TCA と ACh の complex 形成は我々もみとめている。しかし Bio Rex Columm の場合，TCA をはづしてあります。(TCA と Ach の complex 形成は TCA 濃度に dependent)。TCA による抽出が少ないという事は，まさにご指摘の可能性があると思います。

14. モルモット大脳皮質切片における γ-アミノ [1-^{14}C] 酪酸の代謝

町　山　幸　輝（東大・医・精神）
R. Balazs, D. Richter
(MRC Neuropsychiat. Res. Unit, England)

[1-^{14}C] γ-アミノ酪酸 (GABA) を標識基質としてもちい静止およびカリウム刺激呼吸時におけるモルモット大脳皮質切片での GABA 径路の代謝率の計算をこころみた。

1) 静止呼吸時においては定常状態での GABA の代謝率は 0.0065μmole/200mg/min. であった。これは切片の酸素消費率 72.7μmolesO_2/g/hr から計算された TCA 回路の代謝率0.08μmole/200mg/min の約8%にあたる。

2) カリウム刺激呼吸時においては TCA 回路の代謝率は静止呼吸時の2倍以上に増大するが，GABAの酸化は促進されずむしろ減少する。

3) 高濃度の KCl の添加によって脳切片からの GABA 遊出がおこることが観察された。この遊出現象は比較的 GABA に特異的である。遊出される GABA の量は KCl 添加5分後に最大で組織の全 GABA 量の約1/3におよび，以後漸次減少する。

質問：野口　鉄也（慶大・医・生理）

K-effect によって GABA が遊出して来るが，その時の Medium 中の GABA の比放射能が切片中に比してかなり高く，60分後には等しくなっている。このことは GABA の Compartmentation とどう言う関係になるのですか。

答え：最初特に反応液中の GABAの 比放射能が切片中の GABA のそれにくらべて高いのは，KCl 添加時反応液中に存在する少量の GABA の比放射能が極めて高いためであると考えてよいと思う。もちいたC^{14}–GABA の比放射能は非常に高い。Simulahon study において種々検討を行なったが，切片中の GABA に2つ以上の Compartment を仮定する必要を認めませんでした。

質問：高垣玄吉郎（慶大・医・生理）

1) K-effect のときは，グルタミン合成について特別のグルタミン酸のコンパートメントを考えないでよいのはどう理解するか。

2) C^{14}–グルタミン酸を用いて脳切片をインクベイトすると，グルタミン合成について特別のコンパートメントは見られないと言われている。しかし，切片の作製に特別の注意すると，コンパートメンテイションが見られるとも言われる (S. Berl)。これらの点と，この報告のC^{14}–GABA を用いたときとの関係はどうか。

質問：垣内　史郎（中宮病院）

同様な方法を in vivo に適用する可能性は？

15. 脳組織の解糖系の調節

高垣　玄吉郎（慶大・医・生理）

グルタミン酸が脳組織の好気的解糖を著しく促進することは，古くから知られていた。すでに報告したように，アスパラギン酸はグルタミン酸のこの解糖促進作用を抑制する。カリウム効果として知られているように，カリウムイオンは脳切片の好気的解糖を促進するが，グルタミン酸及びアスパラギン酸は Medium からカリウムイオンを伴なってとり込まれ切片内にたくわえられる。これらの関係をさらに明らかにしようとして行なった実験の成績を報告する。この報告の結論は次の如くである。

1) グルタミン酸の好気的解糖の促進作用は，ともなってとりこまれるカリウムの作用であることを証明した。

2) 切片内にとり込まれたグルタミン酸は Medium 中のグルタミン酸と exchangeable であるが，とり込まれたアスパラギン酸は Medium 中のアスパラギン酸とほとんど exchange しない。従って，同時にとり込まれているカリウムもグルタミン酸にともなう場合と，アスパラギン酸にともなう場合とで，切片内での存在様式がことなっていると考えられる。

3) 解糖系に対するカリウムの効果は，主にピルビン酸キナーゼの段階，即ち，エノールピルビン酸リン酸→ピルビン酸の反応に対する作用にもとづくものとして説明することができる。

質問：嶋津　　孝（阪大・医・第3解剖）

脳の slice の解糖を促進するグルタミン酸又はカリウムの効果は in vivo においても適用出来ると考えてよろしいでしょうか。

例えば大量のグルタミン酸を in situ で infusion し

た場合脳の解糖促進は起こるでしょうか。

答え：グルタミン酸はかなり大量注射しても脳内には殆んど入らない。しかし脳内にはグルタミン酸もアスパラギン酸も高濃度に存在するし，代謝的に相互に関係している。このことが細胞内カリウムイオンの動きを介して，解糖系の調節の1つの因子となっていると考えてもよいのではないか。

質問：成瀬　浩（国立精研）

Pyruvate kinase は，Liver ではいろいろな事で活性がかわりうる。脳でもしこの酵素が Limiting factor なら，上記のことを考えて実験してみてはどうか。

答え：一般には Pyruvate kinase は酵素活性としては解糖の Limiting factor ではないと考えられている。脳切片では，所謂正常代謝時にこの段階が limiting となっていて，K^+ によって増強されると考えたい。

質問：町山　幸輝（東大・医・精神）

Pyruvate kinase 活性のカリウム依存性だけで解糖活性増加を定量的に説明しうるか？

答え：定量的な問題は目下検討中である。

質問：柿本　泰男（阪大・医・神経）

Pyruvate kinase の K-dependency は脳でも肝でもみられるとすれば，K-effect がかなり脳に特異的な現象ということはどのように説明されるか？

答え：各臓器でどの段階が調節に主にあづかっているかは，Enzyme activity, Co-factor など種々の事情でことなると思う。Pyruvate kinase はどの臓器からえられるものも，K^+-dependent であると言われている。たまたま，脳切片ではこの段階が主に調節にあづかっているのであろう。

質問：石川　晋次（東大・医・脳研）

PEP を添加した時にはピルビン酸と乳酸の比が大きく変っていますね。PEP の効果は Pyruvate kinase に対するの直接効果でなく他の原因，例えば backward reaction による DPNH/DPN の変動に原因があるのではないでしょうか？

答え：DPN を加えた条件で incubate していること，ピルビン酸は好気的に代謝している条件であることなどから，DPNH/DPNの変動は原因となっていないだろうと思いますが確証はありません。

16. 節後神経切断-白鼠副出交感神経節のアミノ酸代謝の研究

永田　豊・渡辺昌子
（東邦大・医・2生理）
塚田裕三（慶大・医・生理）

頸部交感神経節の節後神経を切断すると，神経細胞の脱落，消失とグリア細胞の増殖がおこる。この標本を用いれば，グリア細胞のみの持つ特性を研究出来，正常神経節と比較することによってニューロン・グリアの相互関係をも調べることが出来る。我々はアミノ酸の代謝について検討し次の如き結果を得た。

1) 節後線維切断により神経節の湿重量のみならず乾重量の著しい増加が認められた。

2) 神経切断側の神経節の遊離アミノ酸含量は対照側のそれと比較して殆んど差がみられなかった。

3) 神経切断-神経節 もアミノ酸を能動的にとり込むがその程度はわずかで速やかに飽和に達しそれ以上増加しない。しかし対照側常正神経節ではアミノ酸のとり込みは持続的に上昇した。このことはアミノ酸の能動輸送系はグリア細胞にあり，神経細胞はグリア細胞から受動的にアミノ酸の貯蔵蓄積するものであることが考えられた。

4) 手術側の神経節はアミノ酸とり込みに際しての stereospecificity を失ってしまった。

以上の結果からニューロンとグリアのアミノ酸代謝と能動輸送に於ける関連性を論ずる。

質問　渡辺　昌祐（岡山大・医・精神）

第1図にみられる Amino acid の Accumulationで，C^{14}-グルタミン酸を用いて実験されたことがありますか。即ち Medium 中のグルタミン酸の SA と Ganglion 中のグルタミン酸の SA を比較されたことはありませんか。

答え：第1図はラベルされていないアミノ酸で行なった結果です。C^{14}-グルタミン酸を用いた実験をまだ行なっていない。

質問：成瀬　浩（国立精研）

呼吸，高エネルギー，リン酸のレベル，その Turn-over の変化はどうですか。これらのアミノ酸の輸送に及ぼす影響はどうでしょうか。

答え：現在，これらの点について実験中ですが，一般的にはグリアの方が低い傾向を示す様です。

質問：柿本　泰男（阪大・医・神経）

1) C^{14}-glutamate のとりこみが glia か neuron かということを知る1つの方法として組織の autoradiography をつくることは考えられないか？

2) Stereospecificity について。

第1図で denervated preparation でみられる L と D との差は実験誤差内にあるのか。

3) アミノ酸の transport の stereospecificity は神経だけの現象ではなく intestine や renal tubules でもみられる。

4) とり込みの速さが1.5～3時間で上るようにみえ

ているが，とり込み開始までに lag time があるのか。

5) connective tissue と glia との区別に水解による hydroxyproline の定量は利用できないか。

答え：1) C^{14}–glutamate のとり込みの Radioautography はまだ行なっていない。やってみたい実験である。

2) 図では数例の平均値のみを示してあり偏差は示してないが，denervate したときは L と D–グルタミン酸とのとり込みの差は実験誤差範囲に入る。

3) 神経組織では in vivo でのみ立体特異性が観察され in vitro では観察されていない。神経節の場合は剔出後もこの性質がある点が特徴的である。

4) 神経節のアミノ酸とり込みは一応最初は直線的で lag phase はないと考えている。測定値の平均値のみを結んだのでそう見えるだけである。

5) 当然考慮されるべき問題で，さらにもっと詳細な膠原線維染色などの組織化学的な検索が必要であろう。

質問：宇尾野公義（東大・医・中尾内科）

1) amino 酸を glia が active transport するという考えは大変興味深いが，正常の脳組織でこのメカニズムが働いていると言うことなのか。あるいは denervation という emergency による reactive glia が neuron の代償をしている可能性はないのか。

2) 脳組織の GABA 代謝の組織化学的検索（van Gelder 法，1965）では glia よりも neuron の活性が絶対的に強く，少なくも正常脳では glia から neuron に active transport するという様な所見は考えられない。

答え：1) 我々は一応正常な glia が活動しているものとして実験を行なっている。しかし emergency なものがどうかは，さらに denervation 後種々の時期でアミノ酸の transport 等の機能をしらべれば解明されるだろう。

2) 神経節においては GABA の代謝系は存在しないが，例えば C^{14}–glucose より遊離アミノ酸への incorporation は denervate した組織でも control と全く同じ pattern を示すことから，glia における transport system も相当活発なものであろうと推定される。

17. 脳組織の 3′, 5′–AMP 濃度におよぼす神経ホルモンの影響

垣内史郎（大阪府立中宮病院）
T. W. Rall (Western Reserve Univ.)

動物組織中の 3′, 5′–AMP 濃度は 1 mμmole/g wet weight 以下と推定されていた。著者は 3,, 5′–AMP の微量定量法を考案し脳組織中の 3′, 5′–AMP 濃度に及ぼす神経ホルモンの影響を検討した。即ち家兎脳切片をホルモンと共に incubats した後 3′, 5′–AMP を組織より抽出分離し，酵素的方法によって測定した。小脳組織を用いて各種ホルモンの効果を調べたところ L–Norepinephrine (NE), Histamine (H), 及び Serotonin (S–HT) の添加によって組織中の 3′, 5′–APM が増量するのを見出した。これらホルモンの作用は Theophylline (Theoph. 5×10^{-4}M) の共存により Theoph を加えない場合に比してその最高値が更に2.5～3倍に増強された。小脳組織の 3′, 5′–AMP は Theoph 共存のもとに，NE (5×10^{-5}M)，H (1×10^{-4}M) 及び 5HT (1×10^{-4}M) によってその添加6分後対照値（ホルモン無添加値）の約20㌫，約10倍，約4倍にそれぞれ上昇し（最高値），次いで時間と共に減少して約30分後には，NH，H の何れを用いた場合にでも対照値の約2倍に到って平衡に達した。NE 及び H の作用が互に独立した機構によるものであることは（I）NE 及び H を同時に添加した場合にその作用は相加的であった。（II）NE 添加後34分を経て平衡に達した小脳切片は再度の NE の添加には，refractory であるが H には良く反応する。この逆の場合も又同様な結果を得た。（III）Dichloroisopretereno の添加により NE の作用が，又 Dibenzylline および Diphenhydramine によって H の作用がそれぞれ選択的に阻害されること等より結論される。

質問：黒川 正則（東大・医・脳研）

Adenylcyclase, Phosphodiesterase が脳組織に高活性で存在することに関して，両酵素の細胞内分布に関しての知見をお教え頂きたい。神経終末分画に高いというようなことはありませんか？

答え：現在迄の所，発表された data はありません。(phosphodiesterase については soluble と porticulate 両fraction に存在するという報告はあります)。Sutherland 一派が最近この問題をとりあげて追究していると聞いています。

質問：市山 新（京大・医・医化学）

脳切片に Norepinephrine を作用させた時 cyclic AMP 濃度は増えるが phosphorylase 活性は増えないとの事ですが脳の inactive phosphorylase の性質を簡単にお教え下さい。

答え：脳の glycogen phosphorylase は muscle type であり，inactive の型は 5′–AMP により activate されること (half maximal stimulation は 1.1×10^{-4}M 5′ AMP) が知られている。active 型 (a) ⇄ inactive 型 (b) の interconversion に関する，kinase (ATP, Mg^{++}) phosphatase も報告されています。著者の実験でも反応の終ったスライスを homogenate にし ATP, Mg^{++} 及

び NaF を加えて incubate すると b→a のconversion が見られた。

質問：小井田雅夫（阪大・蛋白研）

ホルモンがその標的器官に働くときの最初の受容器として cyclase system を考えるべきなのでしょうか。ホルモンの最初の受容器について何か考えをお持ちでしたらお教え下さい。

答え：1) adenyl cyclase が細胞膜に分布していることを示す確証はまだみつかっておりません。

2) adenyl cyclase という名前もまだ半ば operational なものです。即ち御質問にお答えするためには今後の研究（特に adenyl cyclase の精製）の進歩にまつ所が多いと思います。

質問：永津 俊治（愛知学院大・歯・生化）

1) D-Norepinephrine は L-型と比べて影響はどうですか。

2) Epinephrine は Norepinephrine と比べて脳ではどうですか。

公開講演のお知らせ

日本神経化学会主催

昭和42年8月19日（土） 於：野口英世記念会館（新宿区大京町26） 午後1時より5時まで

1) P. Mandel, Institut de Chimie Biologique, Faculté de Médecine, Strasbourg, France
Biosynthèse et signification des homopolyribonucléotides synthetases.
2) E. Roberts, City of Hope Medical Center, Duarte, Calif., U.S.A.
γ-Aminobutyric acid as a potential inhibitory neuro-transmitter in the central nervous system.
3) E. Costa, Department of Pharmacology, Columbia University, New York, N.Y., U.S.A.
Biochemical aspects of the modulation of synaptic transmission.
4) H. McIlwain, Maudsley Hospital, University of London, London, England
Metabolic and electrical events in tissues from the brain.

Neurochemistry Current Titles

CONTENTS

I.	General Neurochemistry	1– 26
II.	Electrolytes, Metals & Inorganic Constituents	27– 60
III.	Carbohydrates & Related Compounds	61– 76
IV.	Amino Acids, Peptides & Related Compounds	77–111
V.	Proteins	112–127
VI.	Nucleic Acids & Related Compounds	128–137
VII.	Lipids, Steroids & Related Compounds	138–180
VIII.	Biogenic Amines	181–249
IX.	Neuro- & Psychotropic Drugs	250–346
X.	Subcellular Units	347–354
XI.	Enzymes & Co-factors	355–401
XII.	Metabolism	402–403

LIST OF JOURNALS COVERED

A	Acta Neurol. Scand.	**42** (4)
	Acta Physiol. Scand.	**67** (3/4), **68** (1, 2); Suppl. 271, 272*, 273*, 274*, 275, 277*
	Acta Psychiat. Scand.	**42** (1)*, Suppl. 189*, 190*, 191
	Am. J. Physiol.	**211** (2, 3, 4)
	Am. J. Psychiat.	**123** (4*, 5, 6)
	Analyst	**91** (1086*, 1087*, 1088*)
	Anal. Biochem.	**16** (3*), **17** (1, 2*)
	Anal. Chem.	**38** (11*, 12*, 13*)
	Arch. Biochem. Biophys.	**115** (3*), **116** (1/3), **117**(1)
B	Biochem. Biophys. Res. Commun.	**24** (6*), **25** (1*, 2, 3*, 4*)
	Biochem. J.	**100** (3), **101** (1, 2, 3)
	Biochem. Pharmacol.	**15** (10, 11)
	Biochem. Z.	**346** (2*, 3*)
	Biochemistry	**5** (9, 10*, 11)
	Biochim. Biophys. Acta	**122** (3*), **123** (3*), **125** (2), **126** (1, 2), **127** (1, 2*), **128** (1, 2*), **129** (1*)
	Brain	**89** (3)

Brain Res. **2** (4), **3** (1*, 2)
Brit. J. Pharmacol. **27** (3), **28** (1)
Brit. J. Psychiat. **112** (490*, 491*, 492)
C Can. J. Biochem. **44** (10*, 11)
Can. J. Physiol. Pharmacol. **44** (5, 6)
E Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. ... **21** (4, 5*)
Ergeb. Physiol. Biol. Chem. Exp. Pharmakol. —
Exp. Brain Res. **1** (4*), **2** (2, 3, 4*)
Exp. Cell Res. **43** (1*, 2*, 3*), **44** (1*)
Exp. Neurol. **16** (1*, 2, 3)
F Federation Proc. ..... **25** (5, part 1* & 2)
H Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. **347** (1/3*)
I Intern. J. Neuropharmacol. **5** (5, 6)
Intern. Rev. Neurobiol. ..... —
J Jap. J. Pharmacol. ..... —
Jap. J. Physiol. **16** (4*, 5)
J. Biochem. Tokyo **60** (3, 4, 5*)
J. Biol. Chem. **241** (17, 18*, 19*, 20*, 21, 22*)
J. Cell Biol. **30** (3*), **31** (1*, 2)
J. Cell. Physiol. **68** (1, 2)
J. Clin. Endocrinol. Metab. **26** (9, 10*, 11*)
J. Clin. Invest. **45** (9*, 10*, 11*)
J. Exp. Med. **124** (4*, 5*, 6)
J. Gen. Physiol. **50** (1, 2)
J. Histochem. Cytochem. **14** (8*, 9, 10*)
J. Lipid Res. **7** (5, 6*)
J. Neurochem. **13** (9, 10, 11)
J. Neurol. Sci. **3** (5, 6)
J. Neurophysiol. **29** (5*)
J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3), **154** (1, 2)
J. Physiol. London **185** (3), **186** (1, 2, 3*), **187** (1)
J. Psychiat. Res. **4** (2)
L Life Sci. **5** (18, 19, 20, 21, 22, 23)
N Nature **211** (5055*, 5056), **212** (5057, 5058, 5059, 5060, 5061, 5062, 5063, 5064, 5065, 5066, 5067)
Naturwissenschaften **53** (18, 19, 20*, 21*, 22, 23*)
Neurology **16** (10, 11, 12)
Neuropsychologia ..... —
P Pflugers Arch. Ges. Physiol. **291** (1, 2*, 3*), **292** (1*, 2*, 3)
Pharmacol. Rev. **18** (3*)
Physiol. Rev. **46** (4*)
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (2, 3, 4, 5)
Proc. Roy. Soc. London, Ser. B **165** (1000, 1001*), **166** (1002)
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **122** (4), **123** (1, 2)
Psychopharmacologia **10** (1, 2)
S Science **153** (3743, 3744), **154** (3745*, 3746, 3747, 3748*, 3749, 3750*, 3751A*, 3751, 3752, 3753, 3754*)
Sci. Am. **215** (4*, 5*, 6*)

* 印はその号について検索したが，神経化学文献が見当らなかったことを示します。

I. General Neurochemistry (1-26)

1. Adler, M. W.
   Time course of altered sensitivity to fluorothyl following cortical ablations in rats.
   J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3): 396–400, '66.
2. Aleu, F. & Thomas, L.
   Studies of PPLO infection III. Electron microscopic study of brain lesions caused by mycoplasma neurolyticum toxin.
   J. Exp. Med. **124** (6): 1083–7, '66.
3. Appenzeller, Q. & Richardson, E. P. Jr.
   The sympathetic chain in patients with diabetic and alcoholic polyneuropathy.
   Neurology **16** (12): 1205–9, '66.
4. Banerjee, S. & Sharma, U.
   Neurosecretory cell in the pupal brain of Culex Faligans weidemann, 1828 (Diptera, Culicidae).
   Naturwissenschaften **53** (19): 512– , '66.
5. Bogoch, S. & Korsh, G.
   Glycamino substances in human brain.
   Nature **212** (5061): 509–10, '66.
6. Brooke, M. H. & Engel, W. K.
   Use of phenazine methosulfate in enzyme histochemistry of human muscle biopsies.
   Neurology **16** (10): 986–93, '66.
7. Christodoulou, G. N. & Papaevangelou, G. J.
   High-protein, high-carbohydrate diets, and electroshock treatment related to 5-hydroxyindoleacetic acid excretion in schizophrenics and normal controls.
   Am. J. Psychiat. **123** (6): 738–42, '66.
8. Domino, E. F., et al.
   The differential effects of plasma from two groups of clinically similar schizophrenic patients on learning behavior in rats.
   J. Psychiat. Res. **4** (2): 87– , '66.
9. Fenstermacher, J. D. & Johnson, J. A.
   Filtration and reflection coefficients of rabbit blood-brain barrier.
   Am. J. Physiol. **211** (2): 341–6, '66.
10. Gwyn, D. G. & Wolstencroft, J. H.
    Ascending and descending cholinergic fibres in cat spinal cord: Histochemical evidence.
    Science **153** (3742). 1543–4, '66.
11. Kroneberg, G., et al.
    Adrenergisch-cholinergische Neuronenhemmstoffe.
    Naturwissenschaften. **53** (19): 502– , '66.
12. Leonhardt, H.
    Interzelluläres perivaskuläres Gehirnödem nack Pentamethylentetrazol ("Cardiazol")-Krampf.
    Naturwissenschaften **53** (18): 481– , '66.
13. Maling, H. M., et al.
    The physiologic role of the sympathetic nervous system in exercise.
    J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 35–45, '66.
14. McLennan, H. & York, D. H.
    Cholinergic mechanisms in the caudate nucleus.
    J. Physiol. **187** (1): 163–75, 9–51, '66.
15. Planiol, T.
    Some aspects of brain-investigation by means of radio-isotopes.
    J. Neurol. Sci. **3** (6): 539–64, '66.
16. Puzynski, S. & Kalinowski, A.
    Investigations of some physiobiochemical properties of ceruloplasmin in schizophrenics and in normal subjects.
    Nature **212** (5060): 399–400, '66.
17. Rosenblatt, F. & Miller, R. G.
    Behavioral assay procedures for transfer of learned behavior by brain extracts.
    Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (5): 1423–30, '66.
18. Schally, A. V., et al.
    Isolation of thyrotropin releasing factor (TRF) from porcine hypothalamus.
    Biochem. Biophys. Res. Comm. **25** (2): 165–9, '66.
19. Schwartz, A. M., et al.
    Cytologic and cytochemical studies of neuroglia: IV. Experimentally induced protoplasmic astrocytosis in the Bergmann glia of cerebellum.
    Neurology **16** (11): 1118–26, '66.
20. Sperry, W. M.
    Heinrich, B. Waelsch., 1905–1966.
    J. Neurochem. **13** (11): 1261–3, '66.
21. Suda, I., et al.

Viability of long term frozen cat brain in vitro.
Nature **212** (5059): 268–70, '66.

22. Wardell, W. M.
Electrical and pharmacological properties of mamalian neurological cells in tissue-culture.
Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B. **165** (1000): 326–61, '66.

23. Webb, G. D., et al.
Biochemical and pharmacological aspects of the synapses of the squid stellate ganglion.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1813–9, '66.

24. Wells, S. A. Jr., et al.
Viral neoplastic transformation of hamster pineal cells *in vitro*: Retention of enzymatic function.
Science **154** (3746): 278–9, '66.

25. Wilson, C. B. & Barker, M.
Cerebrospinal fluid as a culture medium for human brain tumors.
Neurology **16** (11): 1064–70, '66.

26. Zweig, M., et al.
Evidence for a nonretinal pathway of light to the pineal gland of newborn rats.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (2): 515– , '66.

II. Electrolytes, Metals & Inorganic Constituents (27-60)

27. Adelman, W. J. Jr. & Senft, J. P.
Effects of internal sodium on ionic conductance of internally perfused axons.
Nature **212** (5062): 614–6, '66.

28. Adelman, W. J. Jr. & Senft, J. P.
Voltage clamp studies on the effect of internal cesium ion on sodium and potassium currents in the squid giant axon.
J. Gen. Physiol. **50** (2): 279–93, '66.

29. Armstrong, C. M.
Time course of TEA^+-induced anomalous rectification in squid giant axons.
J. Gen. Physiol. **50** (2): 491–503, '66.

30. Bourke, R. S. & Tower, D. B.
Fluid compartmentation and electrolytes of cat cerebral cortex *in vitro*—I. Swelling and solute distribution in mature cerebral cortex.
J. Neurochem. **13** (11): 1071–97, '66.

31. Bourke, R. S. & Toker, D. B.
Fluid compartmentation and electrolytes of cat cerebral cortex *in vitro*—II. Sodium, potassium and chloride of mature cerebral cortex.
J. Neurochem. **13** (11): 1099–117, '66.

32. Caldwell, P. C. & Lowe, A. G.
The active transport of phosphate into giant axons.
J. Physiol. **186** (1): 24 p, '66.

33. Chandler, W. K. & Meves, H.
Incomplete sodium inactivation in internally perfused giant axons from Loligo forbesi.
J. Physiol. **186** (2): 121 p.–22 p., '66.

34. Dettbarn, W.-D. & Rosenberg, P.
Effect of ions on the efflux of acetylcholine from peripheral nerve.
J. Gen. Physiol. **50** (2): 447–60, '66.

35. Dockry, M., et al.
Active transport of sodium and potassium in mamalian skeletal muscle and its modification by nerve and by cholinergic and adrenergic agents.
J. Physiol. **186** (1): 187–200, '66.

36. Haas, H. G. & Kern, R.
Potassium fluxes in viltage clamped Purkinje firbres.
Pfuegers Arch. Ges. Physiol. **291** (1): 69–84, '66.

37. Hadzovic, S., et al.
The effect of tremorigenic substances on the copper content of the rat brain.
J. Neurochem. **13** (10): 1027–9, '66.

38. Jenkins, R. B.
Inorganic arsenic and the nervous system.
Brain **89** (3): 479–98, '66.

39. Jenkner, F. L. & Rosanelli, K.
Observations on cerebrospinal fluid-potassium level in cerebral birth injury.
Neurology **16** (10): 1047–50, 52, '66.

40. Kjällqvist, A. & Siesjö, B. K.
Increase in the intracellular bicarbonate concentration in the brain after acetazol-

amide.
Acta Physiol. Scand. **68** (2): 255–6, '66.

41. Miledi, R.
Strontium as a substitute for calcium in the process of transmitter release at the neuromuscular junction.
Nature **212** (5067): 1233–4, '66.

42. Negishi, K. & Svaetichin, G.
Effects of anoxia, CO_2 and NH_3 on S-potential producing cells and on neurons.
Pfluegers Arch. Ges. Physiol. **292** (3): 177–205, '66.

43. Onodera, K. & Yamakawa, K.
The effects of lithium on the neuromuscular junction of the frog.
Jap. J. Physiol. **16** (5): 541–50, '66.

44. Ozawa, K., et al.
The effect of magnesium on brain mitochondrial metabolism.
J. Biochem. (Tokyo) **60** (3): 268–73, '66.

45. Pontén, U.
Consecutive acid-base changes in blood, brain tissue and cerebrospinal fluid during respiratory acidosis and baseosis.
Acta Neurol. Scand. **42** (4): 455–71, '66.

46. Pontén, U.
Acid-base changes in rat brain tissue during acute respiratory acidosis and baseousis.
Acta Physiol. Scand. **68** (2): 152–63, '66.

47. Pontén, U.
Studies of acute respiratory acid-base changes in brain tissue and cerebrospinal fluid. An approach to the acid-base metabolism of the brain *in vivo*.
Acta Physiol. Scand. **68** (Suppl.) 275: 19 pp., '66.

48. Siesjö, B. K. & Pontén, U.
Acid-base changes in the brain in non-respiratory acidosis and alkalosis.
Exp. Brain Res. **2** (2): 176–90, '66.

49. Sjodin, R. A.
Long duration responses in squid giant axons injected with ^{134}cesium sulfate solutions.
J. Gen. Physiol. **50** (2): 269–78, '66.

50. Stallworthy, W. B. & Fensom, D. S.
Electroosmosis in axons of freshly killed squid.
Can. J. Physiol. Pharmacol. **44** (5): 866–70, '66.

51. Stulc, J.
The influence of exotoxin Shigella shigal on the blood-brain barrier permeability to inorganic phosphate.
Life Sci. **5** (19): 1801–8, '66.

52. Takagi, S. F., et al.
Anion permeability of the olfactory receptive membrane.
J. Gen. Physiol. **50** (2): 473–89, '66.

53. Takata, M., et al.
Ionic conductance changes in lobster axon membrane when lanthanum is substituted for calcium.
J. Gen. Physiol. **50** (2): 461–71, '66.

54. Tasaki, I., et al.
Excitation of squid giant axons in sodium-free external media.
Am. J. Physiol. **211** (3): 746–54, '66.

55. Tasaki, I., et al.
Excitability of squid giant axons in the absence of univalent cations in the external medium.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (4): 1116–22, '66.

56. Tower, D. B. & Bourke, R. S.
Fluid compartmentation and electrolytes of cat cerebral cortex *in vitro*.—III. Ontogenetic and comparative aspects.
J. Neurochem. **13** (11): 1119–37, '66.

57. Villeges, R., et al.
Nonelectrolyte penetration and sodium fluxes through the axolemma of resting and stimulated medium sized axons of the squid Doryteuthis plei.
J. Gen. Physiol. **50** (1): 43–59, '66.

58. Wallin, G.
Simultaneous determination of membrane potential and intracellular ion concentrations in single nerve axons.
Nature **212** (5061): 521–2, '66.

59. Wang, H. H., et al.
Periventricular cerebral impedance after intraventricular injection of calcium.
Science **154** (3753): 1183–5, '66.

60. Yoshida, H., et al.
Andenosine triphosphate dependent calcium binding of microsomes and nerve endings.
Nature **212** (5059): 291–2, '66.

III. Carbohydrates & Related Compounds (61-76)

61. Bertram, S., et al.
Regulation of glycolysis in brain, in situ, during convulsions.
J. Biol. Chem. **241** (21): 5071–5, '66.

62. Etingof, R. N. & Shukolyukov, S. A.
Glycolysis of the retina and some properties of retinal mitochondria.
Federation Proc. **25** (5, Pt. 2): T758–T762, '66.

63. Goldberg, N. D., et al.
Effects of changes in brain metabolism on the levels of citric acid cycle intermediates.
J. Biol. Chem. **241** (17): 3997–4003, '66.

64. Krass, M .E. LaBella, F. S.
Biochemical evidence for a secretory role of the pineal body. Oxidation of [1-^{14}C]- and [6-^{14}C] glucose *in vitro* by pineal body, pituitary, and brain from young and adult animals.
J. Neurochem. **13** (11): 1157–62, '66.

65. Maker, H. S., et al.
The quantitative histochemistry of a chemically induced ependymoblastoma.—II. The effect of ischaemia on substrates of carbohydrate metabolism.
J. Neurochem. **13** (11): 1207–12, '66.

66. O'Neal, R. M., et al.
Utilization *in vivo* of glucose and volatile fatty acids by sheep brain for the synthesis of acidic amino acids.
Biochem. J. **101** (3): 591–7, '66.

67. Parmar, S. S. & Barthwal, J. P.
Effect of cinnamic acid on potassium stimulated respiration in rat brain cortex slices.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1888–90, '66.

68. Perkins, R. K., et al.
The effect of hypertonic sorbital solution on cerebrospinal fluid pressure in the dog.
J. Neurol. Sci. **3** (5): 511–4, '66.

69. Ortiz, W. R., et al.
Corvulsions and sugar transport in brain.
Neurology **16** (12): 1191–3, '66.

70. Ritchie, J. M.
The oxygen consumption of mammalian non-myelinated nerve fibres.
J. Physiol. **186** (2): 120 p.–21 p., '66.

71. Roach, M. K. & Williams, R. J.
Impaired and inadequate glucose metabolism in the brain as an underlying cause of alcoholism—an hypothesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (2): 566–71, '66.

72. Rolleston, F. S. & Newsholme, E. A.
The effect of potassium on glycolysis in cerebral-cortex slices.
Biochem. J. **100** (3): 64 p.–65 p., '66.

73. Rolleston, F. S. & Newsholme, E. A.
Effect of ouabain on glucose metabolism in cerebral cortex slices.
Biochem. J. **101** (3): 41 p.–42 p., '66.

74. Schmahl, F. W., et al.
Energiestoffwechsel der Grobhirnride und Elektroencephalogramm bei Sauerstoffmangel.
Pfluegers Arch. Ges. Physiol. **291** (1): 46–59, '66.

75. Shimizu, H., et al.
Concentration of lactic acid in rat brain during natural sleep.
Nature **212** (5065): 936–7, '66.

76. Watson, W. E.
Some quantitative observations upon the oxidation of substrates of the tricarboxylic acid cycle in injured neurons.
J. Neurochem. **13** (9): 849–56, '66.

IV. Amino Acids, Peptides & Related Compounds (77-111)

77. Auditore, J. V., et al.
Occurrence of N-acetyl-L-glutamic acid in the human brain.
J. Neurochem. **13** (11): 1149–55, '66.

78. Balázs, R., et al.
Subcellular distribution of enzymes of glutamate metabolism in rat brain.
J. Neurochem. **13** (10): 897–905, '66.
79. Bito, L., et al.
The concentrations of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, *in vivo* dialysate of brain, and blood plasma of the dog.
J. Neurochem. **13** (11): 1057–67, '66.
80. Bradford, H. F. & McIlwain, H.
Ionic basis for the depolarization of cerebral tissues by excitatory acidic amino acids.
J. Neurochem. **13** (11): 1163–77, '66.
81. Cimino, F., et al.
Ammonia detoxication by carbamylaspartate.
Life Sci. **5** (22): 2079–83, '66.
82. Cohen, M. M. & Cohen, H. P.
The effect of glutamic acid on phosphorus metabolism in cerebral tissue preparations.
J. Neurochem. **13** (9): 811–8, '66.
83. D'Adamo, A. F. Jr. & Yatsu, F. M.
Actate metabolism in the nervous system. N-acetyl-L-aspartic acid and the biosynthesis of brain lipids.
J. Neurochem. **13** (10): 961–5, '66.
84. Dickinson, J. C. & Hamilton, P. B.
The free amino acids of human spinal fluid determined by ion exchange chromatography.
J. Neurochem. **13** (11): 1179–87, '66.
85. Dunn, A. J. & Korner, A.
Hypophysectomy and amino acid incorporation in a rat brain cell-free system.
Biochem. J. **100** (3): 76 p., '66.
86. Faurbye, A. & Pind, K.
Failure to detect 3,4-dimethoxy-phenylethyl-alanine in the urine of psychotic children.
Acta Psychiat. Scand. **42** (supple. 191): 136–48, '66.
87. Fisher, M. A., et al.
Aminooxyacetic acid: Interaction with gamma-aminobutyric acid and the blood-brain barrier.
Science **153** (3744): 1668–70, '66.
88. Fleming, M. C. & Lowry, O. H.
The measurement of free and N-acetylated aspartic acids in the nervous system.
J. Neurochem. **13** (9): 779–83, '66.
89. Garfinkel, D.
A simulation study of the metabolism and compartmentation in brain of glutamate, asparate, the Krebs cycle, and related metabolites.
J. Biol. Chem. **241** (17): 3918–29, '66.
90. Heijlman, J. & Roukema, P. A.
Isolation of sialomucopeptides from human brain. (BBA 21154)
Biochim. Biophys. Acta **127** (1): 269–71, '66.
91. Hodge, R. L., et al.
The effects of alteration of blood-volume on the concentration of circulating angiotensin in anaesthetized dogs.
J. Physiol. **185** (3): 613–26, '66.
92. Kolousek, I.
The effect of DL-methionine on the water intake of rats and their susceptibility to audiogenic seizures.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (5): 335–41, '66.
93. Krnjevic, K. & Schwartz, S.
Is γ-aminobutyric acid an inhibitory transmitter?
Nature **211** (5056): 1372–4, '66.
94. Lehr, P. & Gayet, J.
Response of the cerebral cortex of the rat to prolonged protein depletion-II. Free aspartic, glutamic and gamma-aminobutyric acids.
J. Neurochem. **13** (9): 805–10, '66.
95. Levin, E., et al.
Ventriculo-cisternal perfusion of amino acids in cat brain. II. Incorporation of glutamic acid, glutamine and GABA into the brain parenchyma.
J. Neurochem. **13** (10): 979–88, '66.
96. Marcucci, F., et al.
Distribution of N-acetyl-L-aspartic acid in rat brain.
J. Neurochem. **13** (11): 1069–70, '66.
97. McKean, C. M. & Boggs, D. E.
Influence of high concentrations of phenylalanine on the amino acids of cerebrospinal fluid and blood.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **122** (4): 987–91, '66.
98. Miyamoto, E., et al.
Identification of N-acetyl-α-aspartylglutamic acid in the bovine brain.
J. Neurochem. **13** (10): 999–1003, '66.
99. Neame, K. D.

Effect of neutral α- and ω-amino acids and basic α-amino acids on uptake of histidine by intestinal mucosa, testis, spleen and kidney *in vitro*; a comparison with effect in brain.
J. Physiol. **185** (3): 627–45, '66.

100. Oja, S. S., et al.
Ammonia content of the developing rat brain.
Nature **212** (5065): 937–8, '66.

101. O'Neal, R. M. & Koeppe, R. E.
Precursors *in vivo* of glutamate, asparate and their derivatives of rat brain.
J. Neurochem. **13** (9) 835–47, '66.

102. Otsuka, M., et al.
Release of gamma-aminobutyric acid from inhibitory nerves of lobster.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (4): 1110–5, '66.

103. Paine, T. F. Jr.
Failure of L-phenylalanine to reverse growth inhibitory effects of chloramphenicol on McCoy cell cultures.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **123** (1): 161–3, '66.

104. Pavel, S. & Petrescu, S.
Inhibition of gonadotrophin by a highly purified pineal peptide and by synthetic arginine vasotocin.
Nature **212** (5066): 1054, '66.

105. Ramirez de Guglielmone, A. E. & Gómez, C. J.
Influence of neonatal hypothyroidism on amino acids in developing rat brain.
J. Neurochem. **13** (10): 1017–25, '66.

106. Sapira, J. D., et al.
Hyperresponsivity to angiotensin induced in rats by behavioral stimulation.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **123** (1): 52–5, '66.

107. Severs, W. B., et al.
Interrelationship between angiotensin II and the sympathetic nervous system.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3): 530–7, '66.

108. Steiner, F. A. & Ruf, K.
Interactions of L-glutamic acid, thiosemicarbazide and pyridoxal-5′-phosphate at single unit level in rat brain.
Brain Res. **3** (2): 214–6, '66.

109. Tapia, R., et al.
Effects *in vivo* and *in vitro* of L-glutamic acid-γ-hydrazide on metabolism of some free amino acids in brain and liver.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1831–45, '66.

110. Wardi, A. H., et al.
Isolation of arabinose-containing hyaluronate peptides and xylose-containing chondroitin sulfate peptides from protease-digested brain tissue.
Arch. Biochem. Biophys. **117** (1): 44–53, '66.

111. Young, R. L. & Lowry, O. H.
Quantitative methods for measuring the histochemical distribution of alanine, glutamate and glutamine in brain.
J. Neurochem. **13** (9): 785–93, '66.

V. Proteins (112-127)

112. Austin, L., et al.
Transport of proteins and ribonucleic acid along nerve axons.
J. Neurochem. **13** (11): 1267–9, '66.

113. Bocci, V. & Gammack, D. B.
Some physicochemical properties of albumins isolated from human serum and cerebrospinal fluid.
J. Neurochem. **13** (9): 875–8, '66.

114. Brink, J. J., et al.
Effects of puromycin, acetoxy-cycloheximide and actinomycin D on protein synthesis in goldfish brain.
J. Neurochem. **13** (10): 889–96, '66.

115. Dean, C. R. & Hope, D. B.
Protein constituents of neurosecretory granules isolated from the posterior lobes of bovine pituitary glands.
Biochem. J. **101** (2): 17 p.–18 p., '66.

116. Edwards, D. C., et al.
Effects of nerve growth factor in new born mice, rats and kittens.
J. Physiol. **186** (1): 10 p.–12 p., '66.

117. Gielen, W.

Über ein hirnspezifisches Glykoprotein.
Naturwissenschaften **53** (19): 504– , '66.

118. Got, K., et al.
Structural proteins of microsomal subfractions from sheep brain.
Nature **212** (5063): 714–5, '66.

119. Hydén, H., et al.
Protein separation of the cellular level by micro disc electrophoresis.
Anal. Biochem. **17** (1): 1–15, '66.

120. McEwen, B. S. & Hydén, H.
A study of specific brain proteins on the semi-micro scale.
J. Neurochem. **13** (9): 823–33, '66.

121. Mirkin, B. L., et al.
Catecholamine binding protein: Binding of tritium to a specific protein fraction of human plasma following *in vitro* incubation with tritiated noradrenaline.
Nature **212** (5067): 1270–1, '66.

122. Renders, J., et al.
The protein profile of cerebrospinal fluid in leprosy patients.
J. Neurol. Sci. **3** (5): 510–1, '66.

123. Roberts, E. de, et al.
In vivo and *in vitro* action of antisera against isolated nerve endings of brain cortex.
Life Sci. **5** (21): 1979–89, '66.

124. Schneck, L., et al.
Absence of serum alpha-2 globulin in Niemann-Pick disease. A measure of hepato-cellular involvement.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **122** (4): 1295–8, '66.

125. Takahashi, T., et al.
The protein biosynthesis in a ribosomal system of the brain.
J. Biochem. (Tokyo) **60** (4): 363–71, '66.

126. Tourtellotte, W. W. & Parker, J. A.
Multiple sclerosis: Correlation between immunoglobulin-G in cerebrospinal fluid and brain.
Science **154** (3752):1044–6, '66.

127. Yoshino, Y., et al.
Biochemical changes in the brain in rats poisoned with an alkylmercury compound, with special reference to the inhibition of protein synthesis in brain cortes slices.
J. Neurochem. **13** (11): 1223–30, '66.

VI. Nucleic Acids & Related Compounds (128-137)

128. Balazs, R., et al.
Pyrimidine metabolism in brain and liver.
Biochem. J. **100** (3): 76 p.–77 p., '66.

129. Bondy, S. C.
The ribonucleic acid metabolism of the brain.
J. Neurochem. **13** (10): 955–9, '66.

130. Brattgard, S.-O., et al.
Free nucleotides in nerve cells. Extraction.
J. Neurochem. **13** (11): 1257–60, '66.

131. Daneholt, B. & Brattgard, S. O.
A comparison between RNA metabolism of nerve cells and glia in the hypoglossal nucleus of the rabbit.
J. Neurochem. **13** (10): 913–21, '66.

132. Deuticke, B. & Gerlach, E.
Abbau freier Nucleotide in Herz, Skeletmuskel, Gehirn und Leber der Ratte bei Sauerstoffmangel.
Pfluegers Arch. Ges. Physiol. **292** (3): 239–54, '66.

133. D'Yakonova, T. L., et al.
Introduction of RNA synthesis in neurons by electrical activity.
Federation Proc. **25** (5, Pt. 2): T901–T904, '66.

134. Jarlstedt, J.
Functional localization in the cerebellar cortex studied by quantitative determinations of Purkinje cell RNA. II. RNA changes in rabbit cerebellar Purkinje cells after caloric stimulation and vestibular neurotomy.
Acta Physiol. Scand. **67** (suppl.) 271: 24 pp., '66.

135. Mandel, P., et al.
Free nucleotides in rabbit and guinea pig brain.

J. Neurochem. **13** (9): 885–6, '66.

136. Nievel, J. G. & Kirby, K. S.
Studies on the isolation and biosynthesis of macromolecular ribonucleic acid in the brain.
Biochem. J. **101** (1): 7C–8C, '66.

137. Terzuolo, C. A., et al.
Measurements of reduced pyridine nucleotides in a single neuron. (BBA45383).
Biochim. Biophys. Acta **126** (2): 361–72, '66.

VII. Lipids, Steroids & Related Compounds (138-180)

138. Abdel-Latif, A. A. & Abood, L. G.
In vivo incorporation of L-[^{14}C] serine into phospholipids and proteins of the subcellular fractions of developing rat brain.
J. Neurochem. **13** (11): 1189–96, '66.

139. Allweis, C., et al.
The oxidation of uniformly labelled albumin-bound palmitic acid to CO_2 by the perfused cat brain.
J. Neurochem. **13** (9): 795–804, '66.

140. Ansell, G. B. & Spanner, S.
The incorporation of [2-^{14}C] ethanolamine and [Me-^{14}C] choline into brain phospholipids *in vivo* and *in vitro*.
Biochem. J. **100** (3): 50 p., '66.

141. Arce, A., et al.
Enzymic binding of sialyl groups to ganglioside derivatives by preparations from the brain of young rat.
Arch. Biochem. Biophys. **116** (1–3): 52–8, '66.

142. Borri, P. F., et al.
Brain ganglioside pattern in three forms of amaurotic idiocy and in gargoylism.
J. Neurochem. **13** (11): 1249–56, '66.

143. Celesia, G. G. & Jasper, H. H.
Acetylcholine released from cerebral cortex in relation to state of activation.
Neurology **16** (11): 1053–63, 70, '66.

144. Chetverikov, D. A. & Gasteva, S. V.
Possible mechanisms of depression of cerebral phospholopid metabolism during a deficiency of body oxygen.
Nature **121** (5067): 1236–8, '66.

145. Chevallier, F. & Petit, L.
Incorporation of cholesterol into the central nervous system and its autoradiographic localization.
Exp. Neurol. **16** (3): 250–4, '66.

146. Clayton, P. A. & Rouve, C. E.
The metabolism of phopholipids in mouse brain slices.
Biochem. J. **101** (3): 674–9, '66.

147. Coceani, F. & Wolfe, L. S.
On the action of prostagladin E and prostagladins from brain on the isolated rat stomach.
Can. J. Physiol. Pharmacol. **44** (6): 933–50, '66.

148. Collier, B. & Mitchell, J. F.
Acetylcholine release from the brain of the conscious rabbit.
J. Physiol. **186** (2): 44 p.–45 p., '66.

149. Crawford, J. M., et al.
Acetylcholine sensitivity of cerebellar neurones in the cat.
J. Physiol. **186** (1): 139–65, '66.

150. Cuzner, M. L., et al.
Turnover of brain mitochondorial membrane lipids.
Biochem. J. **101** (3): 618–26, '66.

151. Dayan, A. D. & Lewis, P. D.
Demyelinating neuropathy in macrocryoglobulinemia.
Neurology **16** (11): 1141–4, '66.

152. Dvorkin, V. Y.
Turnover of individual phospholipid fractions in the rat brain during hypoxia.
Nature **212** (5067): 1239–40, '66.

153. Fumagalli, R., et al.
Lipids in brain tumours II. Effect of triparanol and 20,25-diazacholesterol on sterol composition on experimental and human brain tumours.
J. Neurochem. **13** (10): 1005–10, '66.

154. Gatt, S.
Enzymic hydrolysis of sphingolipids. Hydrolysis of ceramide glucoside by an enzyme from ox brain.
Biochem. J. **101** (3): 687–91, '66.

155. Gatt, S. & Rapport, M. M.
Enzymic hydrolysis of sphingolipids. Hydrolysis of ceramide lactoside by an enzyme from rat brain.
156. Geiger, W. B. & Bampton, A. E.
Fluorescent lipid from brain.
Nature **212** (5061): 510, '66.
157. Holstein, T. J., et al.
Pathway of cholesterol biosynthesis in the brain of the neonatal rat.
J. Lipid Res. **7** (5): 634–8, '66.
158. Hosein, E. A., et al.
Pharmacologic test preparations that distinguish acetylcholine and acetyl-l-carnityl coenzyme A.
Biochem. Pharmacol. **15** (10): 1429–34, '66.
159. Karcher, D.
Thin-layer chromatography as a screening technique for the study of lipids in the central nervous system. (BBA 53100)
Biochim. Biophys. Acta **125** (2): 401–2, '66.
160. Kawakami, M., et al.
Changes in the EEG of the hypothalamus and limbic system after administration of ACTH, SU-4885 and ACH in rabbits with special reference to neuro-humoral feedback regulation of pituitary-adrenal system.
Jap. J. Physiol. **16** (5): 551–69, '66.
161. Kosow, D. P., et al.
Lipid biosynthesis in anoxic-ischaemic rat brain.
J. Neurochem. **13** (11): 1139–42, '66.
162. Krieger, D. T. & Krieger, H. P.
Circadian variation of the plasma 17-hydroxycorticosteroids in central nervous system disease.
J. Clin. Endocrinol. Metab. **26** (9): 929–40, '66.
163. Kuno, M. & Rudomin, P.
The release of acetylcholine from the spinal cord of the cat by antidromic stimulation of motor nerves.
J. Physiol. **187** (1): 177–93, '66.
164. Malone, M. J. & Stoffyn, P.
A comparative study of brain and kidney glycolipids in metachromatic leucodystrophy.
J. Neurochem. **13** (11): 1037–45, '66.
165. Malone, M. J., et al.
Structural studies on sulphatides in metachromatic leucodystrophy.
J. Neurochem. **13** (11): 1033–6, '66.
166. Marshall, E., et al.
The change in fatty acid composition of rat brain phospholipids during development.
J. Neurochem. **13** (9): 857–62, '66.
167. Metz, B.
Hypercapnia and acetylcholine release from the cerebral cortex and medulla.
J. Physiol. **186** (2): 321–32, '66.
168. Misra, U. K.
Fatty acids of brain in hypervitaminosis A in rats.
Can. J. Biochem. **44** (11): 1539– , '66.
169. Miyamoto, K., et al.
Fatty acids of glycerophosphatides in developing chick embryonic brain and liver.
J. Lipid Res. **7** (5): 664–70, '66.
170. Peterson, N. A., et al.
Uptake of injected ^{131}I-labelled thyroxine, triiodothyronine and iodide by rat brain during various stages of development.
J. Neurochem. **13** (10): 933–43, '66.
171. Porcellati, G., et al.
The conversion of the ethanolamine phosphate moiety of L-serine-ethanolamine phosphate to microsomal phospholipid in brain tissue.
Life Sci. **5** (19): 1791–9, '66.
172. Porges, E., et al.
Beitrag zum studium des Milzsphingomyelin bei der Niemann-Pick'schen Erkrankung. Contribution to the study of spleen sphingomyelin in a case of Niemann-Pick's disease.
J. Neurochem. **13** (9): 879–83, '66.
173. Presky, A. L. & Moser, H. W.
Brain lipids, proteolipids, and free amino acids in maple syrup urine disease.
J. Neurochem. **13** (9): 863–74, '66.
174. Renkonen, O.
Individual molecular species of phospholipids. III. Molecular species of ox-brain lecithins (BBA 55244)
Biochim. Biophys. Acta **125** (2): 288–309, '66.
175. Rosell, S.
Release of free fatty acids from subcutane-

ous adipose tissue in dogs following sympathetic nerve stimulation.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 343–51, '66.

176. Seeman, P.
Erythrocyte membrane stabilization by steroids and alcohols; a possible model for anesthesia.
Biochem. Pharmacol. **15** (10): 1632–7, '66.

177. Soto, E. F., et al.
Chemical composition of myelin and other subcellular fractions isolated from bovine white matter.
J. Neurochem. **13** (10): 989–98, '66.

178. Tichy, J.
Chromatographic analysis of cholesterol esters in fetal brain serum and spinal fluid.
Neurology **16** (12): 1219–21, '66.

179. Wells, M. A. & Dittmer, J. C.
A microanalytical technique for the quantitative determination of twenty-four classes of brain lipids.
Biochemistry **5** (11): 3405–18, '66.

180. Young, F. & Hulcher, F. H.
Cholesterol esters in myelin and the component fatty acids.
Proc .Soc. Exp. Biol. Med. **123** (2): 385–7, '66.

VIII. Biogenic Amines (181-249)

181. Adam, H. M. & Hye, H. K. A.
Concentration of histamine in different parts of brain and hypophysis of cat and its modification by drugs.
Brit. J. Pharmacol. **28** (1): 137–52, '66.

182. Alousi, A. & Weiner, N.
The regulation of norepinephrine synthesis in sympathetic nerves: Effect of nerve stimulation, cocaine, and catecholamine-releasing agents.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (5): 1491–6, '66.

183. Andén, N.-E., et al.
A quantitative study on the nigro-neostriatal dopamine neuron system in the rat.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 306–12, '66.

184. Andén, N.-E., et al.
Ascending monoamine neurons to the telecephalon and diencephalon.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 313–26, '66.

185. Andén, N.-E., et al.
The effect of DOPA on the spinal cord. 1. Influence on transmission from primary afferents.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 373–86, '66.

186. Andén, N.-E., et al.
The effect of DOPA on the spinal cord. 2. A pharmacological analysis.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 387–97, '66.

187. Andén, N.-E. & Henning, M.
Adrenergic nerve function, noradrenaline level and noradrenaline uptake in cat nictitating membrane after reserpine treatment.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 498–504, '66.

188. Aprison, M. H. & Hingtgen, J. N.
Neurochemical correlates of behavior. VI. 5-Hydroxytryptamine, norepinephrine, α-methyl-meta-tyramines and 3,4-dihydroxyphenylethylamine concentrations in pigeon brain during the period of atypical behavior following the injection of α-methyl-meta-tyrosine.
Life Sci. **5** (21): 1971–8, '66.

189. Arbuthnott, G. W.
A histochemical study of catecholamines in the somatosensory area of rat cerebral cortex.
J. Physiol. **186** (2): 118 p.–119 p., '66.

190. Avakian, V. M. & Vogt, M.
Role of adrenal hormones in maintaining tissue stores in noradrenaline during increased sympathetic activity.
Brit. J. Pharmacol. **27** (3): 532–6, '66.

191. Biscoe, T. J., et al.
An investigation of catecholamine receptors of spinal interneurones.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 429–34, '66.

192. Bondareff, W.
Localization of α-methylnorepinephrine in sympathetic nerve fiber of the pineal

body.
Exp. Neurol. **16** (2): 131–5, '66.

193. Bygdeman, S. & Euler, U. S. Von.
Neurotransmitter deficiency and reloading in noradrenaline depleted rabbits.
Acta Physiol. Scand. **68** (2): 134–40, '66.

194. Carlsson, A., et al.
Biochemical and histochemical studies on the effects of imipramine-like drugs and (+)-amphetamine on central and peripheral catecholamine neurons.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 481–97, '66.

195. Clark, M. E.
Histochemical localization of monoamines in the nervous system of the polychaete Nephtys.
Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B. **165** (1000): 308–25, '66.

196. Corrodi, H. & Malmfors, T.
The effect of nerve activity on the depletion of the adrenergic transmitter by inhibitors of noradrenaline synthesis.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 352–7, '66.

197. Corrodi, H., et al.
Differences in the uptake of secondary catecholamines by the adrenergic nerves.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 358–62, '66.

198. Dahlström, A. & Häggendal, J.
Some quantitative studies on the noradrenaline content in the cell bodies and terminals of a sympathetic adrenergic neuron system.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 271–7, '66.

199. Dahlström, A. & Häggendal, J.
Studies on the transport and life-span of amine storage granules in a peripheral adrenergic neuron system.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 278–88, '66.

200. Dahlström, A., et al.
The noradrenaline content of the varicosities of sympathetic adrenergic nerve terminals in the rat.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 289–94, '66.

201. Dearnaley, D. P., et al.
Changes in the distribution and content of noradrenaline in the spleen produced by nerve stimulation.
J. Physiol. **186** (1): 20 p.–21 p., '66.

202. De Groat, W. C. & Volle, R. L.
The actions of the catecholamines on transmission in the superior cervical ganglion of the cat.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 1–13, '66.

203. De Groat, W. C. & Volle, R. L.
Interactions between the catecholamines and ganglionic stimulating agents in sympathetic ganglia.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (2): 200–15, '66.

204. Eiduson, S.
5-Hydroxytryptamine in the developing chick brain: Its normal and altered development and possible control by end-product repression.
J. Neurochem. **13** (10): 923–32, '66.

205. El Hawary, M. B. E. & Feldberg, W.
Effect of 5-hydroxytryptophan acting from the cerebral ventricles on 5-hydroxytryptamine output and body temperature.
J. Physiol. **186** (2): 401–15, '66.

206. Eränkö, O. & Räisänen, L.
Demonstration of catecholamines in adrenergic nerve fibers by fixation in aqueous formaldehyde solution and fluorescence microscopy.
J. Histochem. Cytochem. **14** (9): 690–1, '66.

207. Euler, U. S. v.
Release and uptake of noradrenaline in adrenergic nerve granules.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 430–40, '66.

208. Faiman, M. D. & Heble, A. R.
The effect of hyperbaric oxygenation on cerebral amines.
Life Sci. **5** (23): 2225–34, '66.

209. Falck, B., et al.
Changes in rat pineal stores of 5-hydroxytryptamine after inhibition of its synthesis or break-down.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 300–5, '66.

210. Feldberg, W., et al.
Effects on temperature of monoamines injected into the cerebral ventricles of anaesthetized dogs.
J. Physiol. **186** (2): 416–23, '66.

211. Fischer, J. E., et al.
Interactions of bretylium and acetylcholine at sympathetic nerve endings.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3): 523–9, '66.

212. Fredholm, B. & Sedvall, G.
Influence of sympathetic nerve stimulation on noradrenaline stores in the rat salivary gland.
Life Sci. **5** (21): 2023–32, '66.

213. Fuxe, K. & Ungerstedt, U.
Localization of catecholamine uptake in rat brain after intraventricular injection.
Life Sci. **5** (19): 1817–24, '66.

214. Gershenfeld, H. M. & Stefani, E.
An electrophysiological study of 5-hydroxytryptamine receptors of neurones in the molluscan nervous system.
J. Physiol. **185** (3): 684–700, '66.

215. Gessa, G. L., et al.
Selective increase of brain dopamine induced by gamma-hydroxybutyrate.
Life Sci. **5** (21): 1921–30, '66.

216. Giacalone, E. & Valzelli, L.
A method for the determination of 5-hydroxy-indolyl-3-acetic acid in brain.
J. Neurochem. **13** (11): 1265–6, '66.

217. Gillespie, J. S.
Tissue binding of noradrenaline.
Proc. Roy. (London) Ser. B **166** (1002): 1–10, '66.

218. Gillespie, J. S. & Kirpekar, S. M.
The uptake and release of radioactive noradrenaline by the splenic nerves of cats.
J. Physiol. **187** (1): 51–68, '66.

219. Gözsy, B. & Kátó, L.
Delayed inflammatory response to catecholamines and serotonin.
Nature **212** (5066): 1049–50, '66.

220. Grabarits, F. & Harvey, J. A.
The effects of reserpine on behavior and on brain concentrations of serotonin and norepinephrine in control rats and rats with hypothalamic lesions.
J. Pharmacol. Exper. Therap. **153** (3): 401–11, '66.

221. Graham, L. A.
Effect of phenoxybenzamine and hydergine on urinary catechol amines in rat during restraint.
Acta Physiol. Scand. **68** (1): 18–22, '66.

222. Holton, P. & Jacoby, H. E.
The stimulating effects of adrenaline on gastric blood flow, histamine induced gastric oxygen consumption in anaesthetized dogs.
J. Physiol. **186** (1): 31 p.–32 p., '66.

223. Iversen, L. L., et al.
Enchancement of ^{3}H-norepinephrine uptake in rat tissues by O-methylated metabolites of catecholamines.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 56–63, '66.

224. Jonsson, G. & Ritzén, M.
Microspectrofluorometric identification of metaraminol in sympathetic adrenergic neurons.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 505–13, '66.

225. Jonsson, J., et al.
Effect of β-phenylethylamine on content and subcellular distribution of norepinephrine in rat heart and brain.
Life Sci. **5** (23): 2235–46, '66.

226. Juorio, A. V.
The effect of drugs on monoamines and their metabolites in the brain of birds and mammals.
J. Physiol. **186** (2): 70 p.–72 p., '66.

227. Langham, M. E. & Fraser, L. K.
The absence of supersensitivity to adrenergic amines in the eye of the conscious rabbit following preganglionic cervical sympathotomy.
Life Sci. **5** (18): 1699–705, '66.

228. McIsaac, W. M. & Estevez, V.
Structure-action relationship of β-carbolines as monoamine oxidase inhibitors.
Biochem. Pharmacol. **15** (10): 1625–7, '66.

229. Medina, M. & Shore, P. A.
Increased sensitivity in a specific fluorometric method for brain histamine.
Biochem. Pharmacol. **15** (10): 1627–9, '66.

230. Norberg, K.-A., et al.
Histochemical studies on a special catecholamine-containing cell type in sympathetic ganglia.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 260–70, '66.

231. Kulkarni, A. S. & Shideman, F. E.
Sensitivities of the brains of infant and adult rats to the catecholamine-depleting actions of reserpine and tetrabenazine.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3): 428–33, '66.

232. Perry, T. L., et al.
Urinary amines in chronic schizophrenia.

Nature **212** (5058): 146–8, '66.

233. Pscheidt, G. R. & Tamimie, H. S.
Brain amines and brain weights in growing chicks: some normal values and effects of feeding excess dietary L-phenylalanine.
Biochem. Pharmacol. **15** (10): 1629–32, '66.

234. Randrup, A. & Munkvad, I.
DOPA and other naturally occurring substances as causes of stereotypy and rage in rats.
Acta Psychiat. Scand. **42** (suppl.) 191: 193–9, '66.

235. Rech, R. H., et al.
Alterations in behavior and brain catecholamine levels in rats treated with α-methyltyrosine.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3): 412–9, '66.

236. Schildkraut, J. J., et al.
Normetanephrine excretion and affective state in depressed patients treated with imipramine.
Am. J. Psychiat. **123** (6): 690–700, '66.

237. Schönbaum, E., et al.
Acclimation to cold and norepinephrine; effects of immunosympathectomy.
Am. J. Physiol. **211** (3): 647–50, '66.

238. Schümann, H. J., et al.
Storage of norepinephrine in sympathetic ganglia.
Life Sci. **5** (19): 1809–15, '66.

239. Scudder, C. L., et al.
Brain catecholamines and serotonin levels in various strains and genera of mice and a possible interpretation for the correlations of amine levels with electro-shock latency and behavior.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (5): 343–51, '66.

240. Sharman, D. F.
The turnover of 3,4-dihydroxyphenylethylamine (dopamine) in the brain.
J. Physiol. **186** (2): 69 p.–70 p., '66.

241. Shute, C. C. D. & Lewis, P. R.
Cholinergic and monoaminergic systems of the brain.
Nature **212** (5063): 710–1, '66.

242. Stjärne, L.
Studies of noradrenaline biosynthesis in nerve tissue.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 441–54, '66.

243. Stjärne, L. & Lishajko, F.
Comparison of spontaneous loss of catecholamines and ATP *in vitro* from isolated bovine adrenomedullary, vesicular gland, vas deferens and splenic nerve granules.
J. Neurochem. **13** (11): 1213–6, '66.

244. Thoenen, H., et al.
Liberation of p-hydroxynorephedrine from cat spleen by sympathetic nerve stimulation after pretreatment with amphetamine.
Life Sci. **5** (18): 1715–22, '66.

245. Törnqvist, G.
Effect of cervical sympathetic stimulation on accommodation in monkeys. An example of a beta-adrenergic, inhibitory effect.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 363–72, '66.

246. Van Orden, L. S. III., et al.
Histochemical and functional relationships of catecholamines in adrenergic nerve endings. I. Participation of granular vesicles.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (2): 185–99,' 66.

247. Weber, L. J.
Influence of monoamine oxidase inhibitors on 5-hydroxytryptamine synthesis in the brain.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **123** (1): 35–8, '66.

248. Weight, F. F. & Salmoiraghi, G. C.
Responses of spinal cord interneurons to acetylcholine, norepinephrine and serotonin administered by microelectrophoresis.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3): 420–7, '66.

249. Wurtman, R. J.
Latin American symposium on catecholamines.
Science **154** (3749): 680–1, '66.

IX. Neuro- & Psychotropic Drugs (250-346)

250. Adamson, G. T. & Finlay, S. E.
A comparison of the effects of varying dose levels of oxypertine on mood and physical performance of trained athletes.
Brit. J. Psychiat. **112** (492): 1177–80, '66.

251. Andén, N.-E. & Hanson, L.
Effect of benzquinamide on conditioned avoidance response and brain monoamine levels in the cat.
Psychopharmacologia **10** (2): 10–15, '66.

252. Arvidsson, J., et al.
Reciprocal effects on α- and γ-motoneurones of drugs influencing monoaminergic and cholinergic transmission.
Acta Physiol. Scand. **67** (3–4): 398–404, '66.

253. Aston, R. & Stolman, S.
Influence of route and concentration of ethanol upon central depressant effect in the mouse.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **123** (2): 496–8, '66.

254. Avakyan, V. M. & Vlasenko, E. V.
Certain aspects of the action of bretylium and octatensin on neuromuscular conduction.
Federation Proc. **25** (5, Pt. 2): T747–T749, '66.

255. Badin, G. & Mison-Crighel, N.
The effect of an ectosylvian epileptogenic focus induced by topical application of mescaline on nitrogenous compounds in the neocortex of cat.
J. Neurochem. **13** (11): 1217–22, '66.

256. Baekeland, F.
The effect of methyl phenidate on the sleep cycle in man.
Psychopharmacologia **10** (2): 179–83, '66.

257. Barnes, C. D.
The interaction of amphetamine and eserine on the EEG.
Life Sci. **5** (20): 1897–902, '66.

258. Barrett, A. M., et al.
Influence of some anaesthetics on pharmacologically stimulated gastric secretion in the rat.
Brit. J. Pharmacol. **28** (1): 51–63, '66.

259. Bhagat, B. & Ragland, R.
Effect of influsion of metaraminol on the response of reserpine-pretreated spinal cats to tyramine and to noradrenaline.
Brit. J. Pharmacol. **27** (3): 506–13, '66.

260. Bhargava, K. P., et al.
A neuropharmacological study of the antidepressant action of imipramine.
Brit. J. Pharmacol. **27** (3): 468–78, '66.

261. Bignami, G.
Pharmacologic influence on mating behavior in the male rat. Effects of D-amphetamine, LSD-25, strychnine, nicotine and various anticholinergic agents.
Psychopharmacologia **10** (1): 44–58, '66.

262. Bloedel, J., et al.
Transmitter release at the squid giant synapse in the presence of tetrodotoxin.
Nature **212** (5057): 49–50, '66.

263. Bovet, D., et al.
Effects of nicotine on avoidance conditioning of inbred strains of mice.
Psychopharmacologia **10** (1): 1–5, '66.

264. Bovet-Nitti, F.
Facilitation of simultaneous visual discrimination by nicotine in the rat.
Psychopharmacologia **10** (1): 59–66, '66.

265. Brumlik, J. & Moretti, L.
The effect of diphenylhydantoin on nerve conduction velocity.
Neurology **16** (12): 1217–8, '66.

266. Carolis, A. S. de & Longo, V. G.
Study on the antagonistic action of 1-(4-methoxybutylamino) 2-hydroxy (1-4-benzodioxan-2-yl)-ethane (2802 IS) towards some central effects of morphine.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 391–9, '66.

267. Ceasar, P. M. & Schnieden, H.
The effect of copper sulphate and manganese sulphate on the toxicity and tremor of tremorine and on some peripheral responses induced by acetylcholine, noradrenaline, dopamine and 5-

hydroxytryptamine.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1691–700, '66.

268. Charpentier, J.
Nouvelle recherche su le mécanisme d'action de quelques analgésiques centraux. Acide acétylsalicylique, imipramine iminostilbène.
Psychopharmacologia **10** (2): 126–47, '66.

269. Christensen, J. & Daniel, E. E.
Electric and motor effects of autonomic drugs on longitudinal esophageal smooth muscle.
Am. J. Physiol. **211** (2): 387–94, '66.

270. Clark, E. R. & Hughes, I. E.
Blocking action of some quaternary derivatives of 2-(2,6-xylyloxy) ethylamine on adrenergic nerves.
Brit. J. Pharmacol. **28** (1): 105–27, '66.

271. Clasen, R. A., et al.
Reserpine in experimental cerebral edema.
Neurology **16** (12): 1194–204, '66.

272. Corrodi, H. & Hanson, L. C. F.
Central effects of an inhibitor of tyrosine hydroxylation.
Psychopharmacologia **10** (2): 116–25, '66.

273. Dam, M.
Organic changes in phenytoin-intoxicated pigs.
Acta Neurol. Scand. **42** (4): 491–4, '66.

274. Davies, D. R., et al.
The delayed neurotoxicity of phosphorodiamidic fluorides.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1783–9, '66.

275. Deffenu, G. & Mantegazzini, P.
Effects of the 5-hydroxytryptamine on spinal reflexes of the cat.
Psychopharmacologia **10** (1): 96–102, '66.

276. Djahanguri, B. & Guiti, N.
Inhibitory effect of cholorpromazine on alterations in electroencephalograms induced by lysergic acid diethylamide in dogs.
Nature **212** (5057): 87–8, '66.

277. Evans, W. O. & Witt, N. F.
The interaction of high altitude and psychotropic drug action.
Psychopharmacologia **10** (2): 184–8, '66.

278. Feldman, S. & Davidson, J. M.
Effect of hydrocortison on electrical activity, arousal thresholds and evoked potentials in the brains of chronically implanted rabbits.
J. Neurol. Sci. **3** (5): 462–72, '66.

279. Flexner, L. B., et al.
Stages of memory in mice treated with acetoxycycloheximide before or immediately after learning.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (2): 730–5, '66.

280. Ginzel, D. H.
The blockade of reticular and spinal facilitation of motor function by orphenadrine.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 128–41, '66.

281. Hain, J. D., et al.
Effectiveness and processes of interviewing with drugs.
J. Psychiat. Res. **4** (2): 95– , '66.

282. Hishikawa, Y., et al.
Treatment of narcolepsy with imipramine (Tofranil) and desmethylimipramine (Pertofran).
J. Neurol. Sci. **3** (5): 453–61, '66.

283. Hobbiger, F. & Vojvodic, V.
The reactivating and antidotal actions of N,N′-trimethylenebis (pyridinium-4-aldoxine) (TMB-4) and N,N′-oxydimethylenebis (pyridinum-4-aldoxine) (Toxogonin), with particular reference to their effect on phosphorylated acetylcholinesterase in the brain.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1677–90, '66.

284. Horovitz, Z. P., et al.
Effects of drugs on the mousekilling (muricide) test and its relationship to amygdaloid function.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 405–11, '66.

285. Iinnai, D., et al.
γ-Guanidinobutyric acid as a convulsive substance.
Nature **212** (5062): 617, '66.

286. Jori, A. & Bianchetti, A.
Effect of chlorpromazine and of its metabolites on blood glucose and glucose tolerance.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 435–40, '66.

287. Jurna, I.

Depression of the dorsal root potential of the cat spinal cord by amidopyrine.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (5): 361–5, '66.

288. Katz, R. L. & Eakins, K. E.
The effects of succinylcholine, decamethonium, hexacarbacholine, gallamine and dimethyl tubocurarine on the twitch and tonic neuromuscular systems of the cat.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (2): 303–9, '66.

289. Kayaalp, S. O. & Kiran, B. K.
Mechanism of a sympathomimetic action of propanolol in dog.
Brit. J. Pharmacol. **28** (1): 15–22, '66.

290. Khazan, N. & Sulman, F. G.
Effect of imipramine on paradoxical sleep in animals with reference to dreaming and enuresis.
Psychopharmacologia **10** (1): 89–95, '66.

291. Koella, W. P. & Czicman, J.
Mechanism of the EEG-synchronizing action of serotonin.
Am. J. Physiol. **211** (4): 926–34, '66.

292. Korol, B., et al.
Conditioned physiological adaption to anticholinergic drugs.
Am. J. Physiol. **211** (4): 911–4, '66.

293. Kristjansen, P.
Clinical evaluation of neuroleptic drug action, particularly considering the butyrophenones.
Acta Psychiat. Scand. **42** (suppl.) 191: 171–7, '66.

294. Kulkarni, A. S., et al.
Effect of reserpine administered during infancy on brain catecholamines and adult behaviour in the rat.

295. Langer, S. Z.
Presence of tone in the denervated and in the decentralized nictitating membrane of the spinal cat and its influence on determinations of supersensitivity.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 14–34, '66.

296. Latz, A. et al.
Swimming performance of mice as affected by antidepressant drugs and baseline level.
Psychopharmacologia **10** (1): 67–88, '66.

297. Lewis, J. E. & Miller, J. W.
The use of tritiated phenoxybenzamine for investigating receptors.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 46–55, '66.

298. Lish, P. M., et al.
Specificity of antihistamine drugs and involvement of the adrenergic system in histamine deaths in the guinea pig.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **153** (3): 538–43, '66.

299. Lomax, P. & George, R.
Thyroid activity following administration of morphine in rats with hypothalamic lesions.
Brain Res. **2** (4): 361–7, '66.

300. Lomax, P. & Jenden, D. J.
Hypothermia following systematic and intracerebral injection of oxotremorine in the rat.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (5): 353–9, '66.

301. Low, L. A., et al.
Effect of chlorpromazine on avoidance acquition as a function of CS-US interval length.
Psychopharmacologia **10** (2): 148–54, '66.

302. Matsumoto, C.
The interaction of phenoxybenzamine and the adrenergic neuronal blocking agents at the pre-synaptic terminals of the splanchnic nerve.
Life Sci. **5** (21): 1963–9, '66.

303. McCann, F. V.
Curare as a neuromuscular blocking agent in insects.
Science **154** (3752): 1023–4, '66.

304. Miyahare, J. T., et al.
Differential effects of depressant drugs on presynaptic inhibition.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 119–27, '66.

305. Morpurgo, C. & Theobald, W.
Behavioral reactions to amphetamine in reserpinized rats.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (5): 375–7, '66.

306. Mulé, S. J.
Effect of morphine and nalorphine on the metabolism of phospholipids in guinea

pig cerebral cortex slices.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (2): 370–83, '66.

307. Munkvad, I. & Randrup, A.
The persistance of amphetamine–stereotypies of rats in spite of strong sedation.
Acta Psychiat. Scand. **42** (suppl.) 191: 178–87, '66.

308. Muzio, J. N., et al.
Alterations in the nocturnal sleep cycle resulting from LSD.
Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. **21** (4): 313–24, '66.

309. Negishi, K. & Svaetichin, G.
Effects of alcohols and volatile anesthetics on S-potential producing cells and on neurons.
Pfluegers Arch. Ges. Physiol. **292** (3): 218–28, '66.

310. Norton, S. & Jewett, R. E.
A pyrrolopyrimidine with depressant actions on the central nervous system.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (1): 152–60, '66.

311. Oliverio, A.
Effects of mecamylamine on avoidance conditioning and maze learning of mice.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (2): 350–6, '66.

312. Oltman, J. E. & Friedman, S.
Perphenazine-amitriptyline in the treatment of schizophrenia.
Am. J. Psychiat. **123** (5): 607–9, '66.

313. Overton, D. A.
State-dependent learning produced by depressant and atropine-like drugs.
Psychopharmacologia **10** (1): 6–31, '66.

314. Papp, R. H., et al.
Emesis induced by the intracerebroventricular administration of hydergine and mechlorethanine hydrochloride.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (2): 333–8, '66.

315. Parmar, S. S.
Antagonism between stereoisomeric amphetamines, amphetamine derivatives and other monoamine oxidase inhibitors.
Biochem. Pharmacol. **15** (10): 1497–505, '66.

316. Parnas, I. & Atwood, H. L.
Differential effects of strychnine on crustacean slow, fast, and inhibitory neuromuscular systems.
J. Cell. Physiol. **68** (1): 1–12, '66.

317. Payton, B. W.
Use of the frog neuromuscular junction for assessing the action of drugs affectings synaptic transmission.
Brit. J. Pharmacol. **28** (1): 35–43, '66.

318. Payton, B. W. & Shand, D. G.
Actions of gallamine and tetraethylammonium at the frog neuromuscular junction.
Brit. J. Pharmacol. **28** (1): 23–34, '66.

319. Proctor, C. D., et al.
Extension of ethyl alcohol action by pilocarpine.
Brain Res. **3** (2): 217–20, '66.

320. Rand, B. O., et al.
Electrophysiological studies of the action of intravenous diphenylhydantoin (Dilantin).
Neurology **16** (10): 1022–32, '66.

321. Rasch, P. J.
Treatment of disorders of character and schizophrenia by pericyazine (Neulactil).
Acta Psychiat. Scand. **42** (suppl.) 191: 200–15, '66.

322. Ray, O. S. & Bivens, L. W.
Chlorpromazine and amphetamine effects on three operant and on four discrete trial reinforcement schedules.
Psychopharmacologia **10** (1): 32–43, '66.

323. Ray, O. S. & Bivens, L. W.
Performance as a function of drug, dose, and level of training.
Psychopharmacologia **10** (2): 103–9, '66.

324. Rinne, U. K. & Sonnien, V.
Excretion of vanilmandelic and homovanillic acids in man during oxypertine treatment.
Psychopharmacologia **10** (2): 172–8, '66.

325. Roozemond, R. C. & Nauta, W. T.
The effect of orphenadrine and its N-demethyl derivative on the level of 5-hydroxytryptamine in rat brain.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 413–9, '66.

326. Roth, R. H., et al.
γ-Butyrolactone and γ-hydroxy-butyric acid –II. The pharmacologically active form.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 421–8,

'66.

327. Rump, S. & Edelwejn, Z.
Effects of lignocaine on epileptiform patterns of bioelectrical activity of the rabbits brain due to diisopropyl phosphorofluoridate (DFP).
Intern. J. Neuropharmacol **5** (6): 401–3, '66.

328. Rutschmann, J. & Rubinstein, L.
Time estimation, knowledge of results and drug effects.
J. Psychiat. Res. **4** (2): 107– , '66.

329. Schaeppi, U., et al.
Nonganglionic parasympathomimetic action of nicotine upon the isolated cat iris.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **154** (2): 216–23, '66.

330. Schildkrant, J. J.
Antidepressant drugs. (meetings)
Science **154** (3752): 1058–61, '66.

331. Schriabine, A., et al.
Antagonism of 5-hydroxytryptamine by benzquinamide.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (5): 367–74, '66.

332. Seeman, P.
II. Erythrocyte membrane stabilization by local anesthetics and tranquilizers.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1753–66, '66.

333. Seeman, P. & Weinstein, J.
I. Erythrocyte membrane stabilization by tranquilizers and antihistamines.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1737–52, '66.

334. Semer, J. M., et al.
The use of metronidazole in the treatment of alcoholism: a pilot study.
Am. J. Psychiat. **123** (6): 722–4, '66.

335. Shanks, R. G., et al.
Some pharmacological properties of a new adrenergic β-receptor antagonist.
Nature **212** (5057): 88–90, '66.

336. Silverman, A. P.
Barbiturates, lysergic acid diethylamide, and the social behaviour of laboratory rats.
Psychopharmacologia **10** (2): 155–71, '66.

337. Sprince, H., et al.
Neuropharmacological effects of 1,4-butanediol and related congeners compared with those of gamma-hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone.
Life Sci. **5** (22): 2041–52, '66.

338. Stark, P. & Henderson, J. K.
Increased reactivity in rats caused by septal lesions.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 379–89, '66.

339. Stark, P. & Henderson, J. K.
Differentiation of classes of neurosedatives using rats with septal lesions.
Intern. J. Neuropharmacol. **5** (6): 385–9, '66.

340. Stock, K. & Westermann, E.
Competitive and non-competitive inhibition of lipolysis by α- and β-adrenergic blocking agents, methoxamine derivatives, and postaglandin E_1.
Life Sci. **5** (18): 1667–78, '66.

341. Sulster, F., et al.
On the mechanism of amphetamine potentiation by desipramine (DMI).
Life Sci. **5** (21): 2005–10, '66.

342. Utley, J. D.
Effects of anthranil-, benzo-, and salicylhydroxamic acids on mouse brain amines and L-DOPA decarboxylase.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **123** (1): 131–2, '66.

343. Villela, G. G., et al.
Inhibitory effect of barbiturate on brain and serum xanthine oxidase.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1894–6, '66.

344. Waart, C. de, et al.
Action of chlorpromazine on non-specific phosphatase bound to membranes in brain tissue of the rat.
Nature **212** (5064): 848–9, '66.

345. Warhlström, G.
Differences in anaesthetic properties between the optical antipodes of hexobarbital in the rat.
Life Sci. **5** (19): 1781–90, '66.

346. Wharton, R. N. & Fieve, R. R.
The use of lithium in the affective psychoses.
Am. J. Phychiat. **123** (6): 706–12, '66.

X. Subcellular Units (347-354)

347. Chordikian, F., et al.
Light absorbance changes in pure mitochondria and other particulates of rat brain.
J. Neurochem. **13** (10): 945–54, '66.

348. Datta, R. K.
Brain ribosomes. (Review)
Brain Res. **2** (4): 301–22, '66.

349. De Robertis, E., et al.
Nerve endings isolated from rats convulsed by methionine sulphoximine.
Nature **212** (5061): 537–8, '66.

350. Hems, D. A. & Rodnight, R.
Properties of phosphato bound to cerebral microsomes during adenosine-triphosphatase activity.
Biochem. J. **101** (2): 516–23, '66.

351. Koch, R. B. & Lindall, A. W.
Oxidative enzyme activities in rat brain subcellar fractions. The effect of deoxycholate, freeze-thaw, and water.
J. Neurochem. **13** (11): 1231–9, '66.

352. Menken, M., et al.
The influence of bilirubin on oxidative phosphorylation and related reactions in brain and liver mitochondria: Effects of protein–binding.
J. Neurochem. **13** (11): 1241–8, '66.

353. Rodnight, R., et al.
Phosphate binding by cerebral microsomes in relation to adenosine-triphosphatase activity.
Biochem. J. **101** (2): 502–15, '66.

354. Tucek, S.
Binding of choline acetyltransferase in the nerve ending particles of brain.
Nature **212** (5067): 1247–8, '66.

XI. Enzyme & Co-factors (355-401)

355. Axelrod, J., et al.
Light-induced changes in pineal hydroxyindole-O-methyltransferase: Abolition by lateral hypothalamic lesions.
Science **154** (3751): 898– , '66.

356. Bachelard, H. S. & Silva, G. D.
The Na^+, K^+-activated adenosine triphosphatase in degenerating peripheral nerve.
Arch. Biochem. Biophys. **117** (1): 98–105. '66.

357. Baslow, M. H.
N-acetyl-L-histidine synthetase activity from the brain of the killifish Fundulus heteroclitus.
Brain Res. **3** (2): 210–3, '66.

358. Bignami, A., et al.
Sodium-potassium adenosine triphosphatase in the developing chick brain.
Brain Res. **3** (2): 207–9, '66.

359. Bocci, V.
Enzyme and metabolic properties of isolated neurones.
Nature **212** (5064): 826–7, '66.

360. Brody, I. A.
Lactate dehydrogenase isoenzymes: A difference between cutaneous and muscular nerves.
J. Neurochem. **13** (10): 975–8, '66.

361. Bryant, S. H. & Brzin, M.
Cholinesterase activity of isolated giant synapses.
J. Cell. Physiol. **68** (2): 107–8, '66.

362. Brzin, M.
The localization of acetylcholinesterase in axonal membranes of frog nerve fibers.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (5): 1560–3, '66.

363. Brzin, M., et al.
Acetylcholinesterase in frog sympathetic and dorsal root ganglia. A study by electron microscope cytochemistry and microgasometric analysis with the magnetic

diver.
J. Cell. Biol. **31** (2): 215– , '66.

364. Chingnell, C. F. & Titus, E.
The effect of hydroxylamine on a Na^+- and K^+-requiring adenosine triphosphatase from beef brain.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (5): 1620–4, '66.

365. De Ropp, R. S. & Furst, A.
Effect of analogs of phenylalanine and tryptophan on kinetics of DOPA decarboxylase in rat brain.
Brain Res. **2** (4): 323–32, '66.

366. Epstein, M. H. & O'Connor, J. S.
Enzyme changes in isolated retinal layers in light and darkness.
J. Neurochem. **13** (10): 907–11, '66.

367. Fonnum, F.
Is choline acetyltransferase present in synaptic vesicles?
Biochem. Pharmacol. **15** (10): 1641–3, '66.

368. Foxwell, C. J., et al.
Multiple forms of aldolase in rabbit brain.
Biochem. J. **100** (3): 44 p.–45 p., '66.

369. Frohwein, Y. Z. & Gatt, S.
Separation of β-N-acetylglucosaminidase and β-N-acetylgalactosaminidase from calf brain cytoplasm. (BBA 61113)
Biochem. Biophys. Acta **128** (1): 216–8, '66.

370. Fuller, R. W.
Serotonin oxidation by rat brain monoamine oxidase: Inhibition by 4-chloroamphetamine.
Life Sci. **5** (23): 2247–52, '66.

371. Goldstein, D. B.
D-Amino acid oxidase in brain: distribution in several species and inhibitory by pentobarbitone.
J. Neurochem. **13** (10): 1011–6, '66.

372. Graham, J. D. P. & Katib, H. Al.
The action of trypsin on blockade by 2-halogenoalkylamines: speculation on the nature of the alpha receptor for catecholamine.
Brit. J. Pharmacol. **28** (1): 1–14, '66.

373. Gruener, N. & Avi-Dor, Y.
Temperature-dependence of activation and inhibition of rat-brain adenosine triphosphatase activated by sodium and potassium ions.
Biochem. J. **100** (3): 762–7, '66.

274. Guth, L., et al.
Quantitative changes in cholinesterase activity of denervated sole plates following implantation of nerve into muscle.
Exp. Neurol. **16** (2): 136–47, '66.

375. Gwyn, D. G. & Vrbová, G.
Changes in the histochemical appearance of cholinesterase at the neuromuscular junction in atrophic muscles.
J. Physiol. **186** (1): 7 p.–9 p., '66.

376. Heller, A., et al.
Regional effects of lateral hypothalamic lesions on 5-hydroxytryptophan decarboxylase in the cat brain.
J. Neurochem. **13** (10): 967–74, '66.

377. Hokin, L. E., et al.
Irreversible inhibition of adenosine triphosphatases, diglyceride kinase and phosvitin kinase of brain by diisopropylphosphorofluoridate. (BBA 45359)
Biochem. Biophys. Acta **126** (1): 100–16, '66.

378. Kai, M., et al.
The phosphatidylinositol kinase of rat brain.
Biochem. J. **101** (2): 328–37, '66.

379. King, N. J.
The extracellular enzymes of Coniophora cerebella.
Biochem. J. **100** (3): 784–92, '66.

380. Klingman, G. I.
Monoamine oxidase activity of peripheral organs and sympathetic ganglia of the rat after immunosympathectomy.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1729–36, '66.

381. Koen, A. L. & Shaw, C. R.
Retinol and alcohol dehydrogenases in retina and liver. (BBA 65471)
Biochem. Biophys. Acta **128** (1): 48–54, '66.

382. Lehrer, G. M., et al.
The quantitative histochemistry of a chemically induced ependymoblastoma—I. Enzymes.
J. Neurochem. **13** (11): 1197–206, '66.

383. Levine, R. J.
Assessment of drug-induced inhibition of monoamine oxidase activity.
Biochem. Pharmacol. **15** (11): 1645–7, '66.

384. Main, A. R. & Hastings, F. L.
Carbamylation and binding constants for

the inhibition of acetylcholinesterase by physostigmine (eserine).
Science **154** (3747): 400–2, '66.

385. Manocha, S. L. & Bourne, G. H.
Histochemical mapping of succinic dehydrogenase and cytochrome oxidase in the spinal cord, medulla oblongata and cerebellum of squirrel monkey (Saimiri sciureus).
Exp. Brain Res. **2** (3): 216–29, '66.

386. Manocha, S. L. & Bourne, G. H.
Histochemical mapping of succinic dehydrogenase and cytochrome oxidase in the pons and mesencephalon of squirrel monkey (Saimiri sciureus).
Exp. Brain Res. **2** (3): 230–46, '66.

387. Manocha, S. L. & Bourne, G. H.
Histochemical mapping of monoamino oxidase and lactic dehydrogenase in the pons and mesencephalon of squirrel monkey (Saimiri sciureus).
J. Neurochem. **13** (11): 1047–56, '66.

388. Marchbanks, R. M.
The osmotically sensitive volume of synaptosomes.
Biochem. J. **100** (3): 65 p.–66 p., '66.

389. Oberlander, H. & Schneiderman, H. A.
Esterase changes during the activation of pupal brains of the saturniid moth, Hyalophora cecropia.
Nature **212** (5060): 432–3, '66.

390. Pigareva, Z. D.
Biochemical heterogeneity of brain mitochondoria.
Federation Proc. **25** (5, Pt. 2): T879–T882, '66.

391. Podleski, T. R. & Nachmansohn, D.
Similarities between active sites of acetylcholine receptor and acetylcholinesterase tested with quinolinium ions.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **56** (3): 1034–9, '66.

392. Pryor, G. T., et al.
Differences in brain enzymes among five inbred strains of mice.
Life Sci. **5** (22): 2105–11, '66.

393. Robinson, N.
An enzyme study of the myocardium in Friedreich's ataxia.
Neurology **16** (11): 1135–40, '66.

394. Rodnight, R. & Laivn, B. E.
Enzyme transfer of phosphate from adenosine triphosphate to protein-bound serine residues in cerebral microsomes.
Biochem. J. **101** (2): 495–501, '66.

395. Sams, W. M. Jr. & Carroll, N. V.
Cholinesterase inhibitory property of dimethyl suphoxide.
Nature **212** (5060): 405, '66.

396. Schuberth, J., et al.
Acetyl-coenzyme A in brain. The effect of centrally active drugs, insulin coma and hypoxia.
J. Neurochem. **13** (9): 819–22, '66.

397. Schuttleworth, E. C. Jr. & Allen, N.
Acid hydrolases in pia-arachnoid and ependyma of rat brain.
Neurology **16** (10): 979–85, '66.

398. Stewart, D. M. & Martin, A. W.
Acetylcholine and cholinesterase activity of the denervated hemidiaphragm of the rat.
Exp. Neurol. **16** (3): 299–306, '66.

399. Susz, J. P., et al.
Purification and some properties of mouse brain L-Glutamic decarboxylase.
Biochemistry **5** (9): 2870–6, '66.

400. Winteringham, F. P. W. & Fowler, K. S.
Substrate and dilution effects on the inhibition of acetylcholinesterase by carbamates.
Biochem. J. **101** (1): 127–34, '66.

401. Zolovick, A. J., et al.
Monoamine oxidase activity in various parts of the rat brain during the estrous cycle.
Science **154** (3749): 649, '66.

XII. Metabolism (402-403)

402. Levins, S. & Payan, H.
Effects of ischemia and other procedures on the brain and retina of the gerbil (Meriones unguiculatus).
Exp. Neurol. **16** (3): 255–62, '66.

403. Srebro, Z.
Lipofuscin turnover in the frog brain.
Naturwissenschaften **53** (22): 590– , '66.

DEVELOPING BRAIN

No. 19 February, 1967

This seems to be the time of the year when news is particularly scarce. I hope, therefore, that you will send me new addresses, meetings attended and all information of this kind that would be of interest to others who receive the newsletter. I would like to call special attention to the Nurition Society Symposium on "Relationship of nutrition to central nervous system development and function" which has just been published in FEDERATION PROCEEDINGS for January-February, 1967 (Volume 26, No. 1). The papers are taken from the symposium of the same name given at the FASEB Meeting in Atlantic City in April, 1966. The papers are as follows: Coursin, D. B. Overview; Graham, G. G. Effect of infantile malnutrition on growth; Barnes, R. H. Experimental animal approaches to the study of early malnutrition and mental development; Witkop, C. J., Jr. Genetics and nutrition.

CURRENT CONTENTS, 9: Nov. 15, 1966

(1) Devi, A., Lindsay, P., Raina, P. L. and Sarkar, N. K. Effect of age on some aspects of the synthesis of ribonucleic acid. Nature, 212: 474, 1966. (2) Dmitriyeva, N. I., Kalinina, E. I., Klyavina, M. P. and Obraztsova, G. A. On the structural and functional development of the auditory analyser in ontogenesis in dogs. Zh. Vyss. Nerv. Deyat. Pavlova, 16:839, 1966. (3) Schreider, E. Brain weight correlations calculated from original results of Paul Broca. Am. J. Phys. Anthropol., 25:153, 1966. (4) Seewald, R. G. On the development of conditioned inhibition in ontogenesis in dogs. Zh. Vyss. Nerv. Deyat. Pavlova, 16:822, 1966. (5) Arce, A., Maccioni, H. F. and Caputto, R. Enzymic binding of sialyl grocps to ganglioside derivatives by preparations from the brain of young rat. Arch. Biochem. Biophys., 116:52, 1966. (6) Vavilova, N. M. Influence of electrical stimulation of the hippocampus on unconditioned and conditioned reflexes in dogs in ontogenesis. Zh. Vyss. Nerv. Deyat. Pavlova, 16:830, 1966.

CURRENT CONTENTS, 9: Nov. 22, 1966

(1) Wilson, J. S. P. and Vallance-Owen, J. Congenital deformities and insulin antagonism. The Lancet, 2:940, 1966.

CURRENT CONTENTS, 9: Dec. 6, 1966

(1) Baker, P. C. Monoamine oxidase in the eye, brain, and whole embryo of developing *xenopus laevis*. Develop. Biol., 14:267, 1966. (2) Candland, D. K. and Milne, D. Species differences in approach behaviour as a function of developmental environment. Animal Behaviour, 14:539, 1966. (3) McWhinnie, D. J. and Saunders, J. W., Jr. Developmental patterns and specificities of alkaline phosphatase in the embryonic chick limb. Develop. Biol., 14:169, 1966. (4) O'Neill, J. J. and Duffy, T. E. Alternate metabolic pathways in newborn brain. Life Sci., 5:1849, 1966. (5) Sinclair, J. C. Experimental design in studies of the newborn. Pediatrics, 38:787, 1966. (6) Sours, J. A. Growth and emotional development of the child. Postgrad. Med.,

40:515, 1966. (7) Tyler, B. B., Tyler, F. B. and Rafferty, J. E. The development of behavior patterns in children. Genet. Psychol. Monogr., 74:165, 1966.

CURRENT CONTENTS,

9: Dec. 13, 1966

(1) Anton, A. and Greer, M. The effect of reserpine on catecholamine metabolism and behavior in retarded children. Clin. Pharmacol. Therap., 7:727, 1966. (2) Bonavita, V., Guarneri, R. and Ponte, F. ATPase in the normal and dystrophic developing retina of the rat. Experientia, 22:720, 1966. (3) Brambell, F. W. R. The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins. The Lancet, 2:1087, 1966. (4) Burston. G. R. Foetal malformations associated with maternal infective hepatitis. The Practitioner, 197: 664, 1966. (5) Chamberlain, J. G. Development of cleft palate induced by 6-aminonicotinamide late in rat gestation. Anat. Rec., 156:31, 1966. (6) Cogan, D. G. Ocular correlates of inborn metabolic defects. Can. Med. Assoc. J., 95:1055, 1966. (7) Edel, S. and Poirel, G. Evolution des nucléotides libres du cerveau du rat au cours de la croissance post-natale. Bull. Soc. Chim. Biol. France, 48:935, 1966. (8) Edel, S. and Rein-Lovtrup, H. Nucléotides libres du systéme nerveux central de Mammiferes et de quelques Vertébres inférieurs. Bull. Soc. Chim. Biol. France, 48:915, 1966. (9) Ermatova, D. U. On the peculiarities of energy expenditure in rabbits of different age. Biull. Eksp. Biol. Med., 62:23, 1966. (10) Faurbye, A. and Pind, K. Failure to detect 3,4-dimethoxyphenylethylamine in the urine of psychotic children. Acta Psychiat. Scand., 42:136, 1966. (11) Fugo, N. W. and Butcher, R. L. Overripeness and the Mammalian ova. I. Overripeness and early embryonic development. Fertility and Sterility, 17:804, 1966. (12) Gould, C. M. Gestation length and growth rate. Vet. Rec., 79:663, 1966. (13) Jilek, L., Trojan, S. and Travnickova, E. Lactic acid and glycogen changes in the rat brain due to aerogenic (altitude) hypoxia during ontogenesis. Physiol. Bohemoslov., 6:532, 1966. (14) Jirásek, J. E., Uher, J. and Uhrova, M. Water and nitrogen content of the body of young human embryos. Am. J. Obstet. Gynecol., 96: 868, 1966. (15) Oja, S. S., von Bonsdorff, H. A. R. and Lindroos, O. F. C., Ammonia content of the developing rat brain. Nature, 212:937, 1966.

CALLING ATTENTION TO:

The International Symposium Neuroontogeneticum to be held in Prague, September, 1967. For information get in touch with: Dr. Lubor Jilek, Professor of Physiology, Charles University, Prague 2, Czechoslovakia.

Dr. W. Eugene Knox of Harvard Medical School and New England Deaconess Hospital is anxious to collect information on all patients in the U.S. from 1960–1965 who were diagnosed as having phenylketonuria. Dr. Knox's study will accumulate results of treatment in progress so that they will be available for the improvement of treatment procedures.

NEW BOOKS:

"Brain Tissue Electrolytes" by A. Van Harreveld, Butterworth, Washington, D.C., 171 pages, $8.00.

"Biology of the Laboratory Mouse" 2nd Edition, by E. L. Green, Blakiston Division, McGraw-Hill Company, New York, 706 pages, $16.50.

DEVELOPING BRAIN

No. 20 April, 1967

The January 1967 Newsletter of CIOMS has an interesting editorial on problems of medical information-retrieval systems. They point out that one of the first needs for the development of worldwide system is the establishment of a uniform terminology. The Index Medicus is an excellent example of the use that can be made of an automated information-retrieval system. However, as the editor notes"... information-retrieval systems designated for certain topics are not necessarily compatible with systems designed for allied topics, in the same country or in other countries". The World Health Organization and CIOMS has made a beginning toward an international subject list for some fields of medical science. However, no effort has been made toward coordination of nomenclature.

The same issue of CIOMS Newsletter contains the calendar of regional congresses of medical sciences. If you are planning an international meeting in the field of medical science CIOMS (6, rue Franklin, Paris 16e, France), asks that you send them typed on one page the date, place, name of meeting, address of secretary, etc. The information collected in this way will be available on individual request to the CIOMS.

Visitors to the Thudichum Psychiatry Research Laboratory in April and May will include: Dr. Lembit Allikmets, Tartu University in Estonia, who is at present at Yale as an exchange fellow; Dr. Christer Owman of Lund, Sweden; Dr. and Mrs. Giencardo Pepeu of Italy; Dr. and Mrs. Bengt Falck of Lund, Sweden; and Dr. Stanley Crain of New York City; and Dr. John Harding Price from England.

REFERENCES:

(1) Albert, S., Wolf, P. L. and Potter, R. Evaluation of the maternal role in survival of suckling mice. Experientia, 22:477, 1966. (2) Bernhard, C. G., Kaiser, I. H. and Kolmodin, G. M. On the development of cortical activity in fetal sheep. Acta Physiol. Scand. 47:333, 1959. (3) Bischel, M., Austin, J. and Kemeny ,M. Metachromatic leukodystrophy (kMLD). VII. Elevated sulfated acid polysaccharide levels in urine and postmortem tissues. Arch. Neurol., 15:13, 1966. (4) Brahma, S. K. An autoradiographic study of RNA synthesis during primary embryonic induction. J. Embryol. exp. Morph., 16: 203, 1966. (5) Eidelberg, E., Kolmodin, G. M. and Meyerson, B. A. Ontogenesis of steady potential and direct cortical response in fetal sheep brain. Exp. Neurol., 12:198, 1965. (6) Gibson, J. P., Staples, R. E. and Newberne, J. W. Use of the rabbit in teratogenicity studies. Toxicol. Appl. Pharmacol., 9:398, 1966. (7) Godin, C. and Dolan, G. Metabolism of radioactive phenylalanine in rats with different dietary intakes of

phenylalanine. J. Nutr., 90:284, 1966. (8) Hagberg, B. and Sjorgen, I. The chronic brain syndrome of infantile hydrocephalus. A follow-up study of 63 spontaneously arrested cases. Am. J. Dis. Child., 112:189, 1966. (9) Kulkarni, A. S. and Shideman, F. E. Sensitivities of the brains of infant and adult rats to the catecholamine[1]-depleting actions of reserpine and tetrabenazine. J. Pharmacol. Exp. Therap., 153:428, 1966. (10) Light, I. J., Berry, H. K. and Sutherland, J. M. Aminoacidemia of prematurity: Its response to ascorbic acid. Am. J. Dis. Child., 112:229, 1966. (11) Marais, J. P., deWit, J. L. and Quicke, G. V. A critical examination of the Nelson-Somogyi method for the determination of reducing sugars. Analyt. Biochem. 15:373, 1966. (12) Meyerson, B. A. The effect of asphyxia on induced cortical activity in fetal sheep. Acta Physiol. Scand., 62: 489, 1964. (13) Moore, R. E. and Simmonds, M. A. The decline with age in the thermogenic response of the young rat to L-nor-adrenaline. J. Physiol., 184:28, 1966. (14) O'Neill, J. J. and Duffy, T. E. Alternate metabolic pathways in newborn brain. Life Sci., 5:1849, 1966. (15) Passarge, E., True, C. W. Sueoka, W. T., Baumgartner, N. R. and Keer, K. R. Malformations of the central nervous system in trisomy 18 syndrome. J. Pediat., 69:771, 1966. (16) Sinclair, J. C. Experimental design in studies of the newborn. Pediatrics, 38:787, 1966. (17) Sprague, J. M. Interaction of cortex and superior colliculus in mediation of visually guided behavior in the cat. Science, 153:1544, 1966. (15) Majoie, B. Theses: Le grade de docteur esciences naturelles. June 16, 1966.

CURRENT CONTENTS, 9: Dec. 20, 1966

(1) Bower, T. G. R. The visual world of infants. Scient. Am., 215:80, 1966. (2) Mongeau, J-G., Hilgartner, M., Worthen, H. W. and Frimpter, G. W. Cystathioninuria: study of an infant with normal mentality, thrombocytopenia, and renal calculi. J. Pediat., 69:1113, 1966. (3) Ounsted, M. and Ounsted, C. Maternal regulation of intrauterine growth. Nature, 212:995, 1966. (4) Nitowsky, H. M., Matz, L. and Berzofsky, J. A. Studies on oxidative drug metabolism in the full-term newborn infant. J. Pediat., 69:1139, 1966.

NEW BOOKS:

"The Biochemistry of Animal Development" by Rudolph Weber, Academic Press, New York and London, $23.00.

"Laboratory Animals" Part II. Animals For Research. Institute of Laboratory Animal Resources. National Academy of Sciences, Washington, D.C. 1966. $2.00.

CHANGES OF ADDRESS:

Dr. Stanley M. Crain
Department of Physiology
Albert Einstein College of Medicine
1300 Morris Park Avenue
Bronx, New York 10461

Dr. Dominick P. Purpura
Albert Einstein College of Medicine
Yeshiva University
Department of Anatomy
Eastchester Road and Morris Park Avenue
New York 61, New York

研究所めぐり

ストラスブール大学生化学研究室と神経化学センター研究所

植村慶一（慶大生理／在ストラスブール）

ここストラスブール（フランス）は花の都パリから東に 500 km，ライン川を境としてドイツに面している人口20万の小都市である。ラインの支流イル川の運河にかこまれて，中心部は13世紀にたてられたカセドラル（教会）をはじめ，古い建物が美しく立ちならび，郊外に高層建築アパート群が続々と建てられつつあるのと好対照をなしている。中央駅から徒歩10分，3つの小さい橋を渡って，研究所につく。地上10階地下2階のミドリの壁と広い窓にかこまれた近代的な建物の入口には Institut de Chimie Biologique（ストラスブール大学医学部生化学）と共に，Centre de Neurochimie—Centre National de la Recherche Scientifique（フランス国立中央研究機構神経化学センター）の金文字が光っている。Paul Mandel が教授であり Director である。

各階には大小とりまぜて40位の部屋があり，壁や廊下は各階毎に異った色でいろどられている。地下1階に電子顕微鏡室（最近 Philips が入った），1・2階は附属病院の依頼をうけて行なう特殊生化学中央検査室，生化学学生実習室，3階は Mandel 教授室，秘書室，図書室（ここに JBC, ABB, J. Neurochem. など一応の雑誌はそろっている），各種事務室，Mandel 夫人研究室など，4階は脂質関係の研究室で，バクテリア，脳，眼など各種グループがある。5階は Histology 関係，6階は Neurophysiology 関係，7階は Protein, Amino 酸が主で，ここでも脳をはじめ肝，眼などのグループに分れている。8階は Enzyme, Nucleic acid のグループ，9階に動物飼育室と薬品のストックルームとなっている。設備の方は超遠心機はすべて Beckman-Spinco で分析用1台，分離用はL-4型をはじめ，4万回転程度のものは各階に2・3台づつあり，合計すると10台以上になる。比色計はキャリー，Beckman ギルホードの自記の他，手動のものはフランス製のものが数台ある。フラクションコレクター，自記核酸蛋白記録計などもあちこちにある。液体シンチレーションカウンターはパッカードが5台，ガスフローカウンターはヌクレアーシカゴが数台，アミノ酸自動分析はテクニコンといった具合で，一応の生化学的な機械は，あまり不自由なく使えるのは有難い。ただしフランス製のものは良いものは少い。日本ではアミノ酸自動分析機が4～5種もあり，ほとんどの機械は国産で出来ると話すとみんなとても驚いている。それから脱イオン水は中央供給制，コールドルーム（+4°C，−20°C），真空吸引室，製氷機も各階にある。写真室は8階で技師がいる。37°C 恒温室，滅菌室は8階，液体窒素ボンベは7階にある。この様な立派な建物，設備は CNRS の組織と Mandel 教授の政治力によるところが大きいようである。

次に構成スタッフだが，前にふれたようにこの研究所は CNRS の神経化学センターと医学部生化学の2つの性格を兼ねているので，CNRSに属する人（理学部出身の人が多く研究のみに専念出来る）と医学部に属する人（医学部出身の数人だけで，講義，学生実習の他中央検査室にも関係をもっており，収入もかなり高級（月収15～40万程度）を得ている）がいる。その他に理学部出身の CNRS に入る前の若い人がかなりおり，彼らは学生実習も受持っている。この CNRS というのはフランス御自慢の組織でこの研究員になるには，日本の博士号のように主論文が必要であるが，メンバーになれば大学講座と関係なく俸給（月収10～30万程度）は保障される。また CNRS 研究員にはいろいろの階級があり毎年報告や論文を出して少しずつ上ってゆくが，外国人には厳しいようである。こういう制度は講座制にしばられ，しかも薄給にあえいでいる我々日本の研究者にはうらやましい。併し一般にのんびり仕事をしており，迫力に欠けるうらみがあるのはフランス気風とこの制度によって保護されているためという人もある。それはともかく，まず Director の Mandel 教授は若いころ東大の江上教授と机を並べて仕事をしたことがあるそうで仲々外国人びいきである。彼はヌクレオチド，核酸の研究者で多くの著書がある。小柄で人なつこい目をしている。今年の7月の第1回国際神経化学会を Strasbourg で彼が主催し，

8月には日本の国際生化学会に夫人同伴で出かけると張切っている。核酸のグループは助教授格の Chambon (アメリカ留学中), CNRS メンバーの Jacob を中心に Samec, Stevenin, Garel, Judes らの若手が脳の RNA の代謝, Polysome RNA, S-RNA の調製などをやっている。Edel は遊離スクレオチドの分離をやっている。酵素グループではアメリカの E. Roberts のところに長く留学していた Waksmann (ベルギー) を中心に Block, Alvano (メキシコ) らがグルタミン酸, GABA に関するトランスアミナーゼの Isozyme について研究している。蛋白グループは教授資格を持つ Vincendon, イタリア出身の Gombos (彼はアメカリで Geiger のところで島山大の大月・渡辺氏らと仕事をしたことがある), Tardy と小生が脳の酸性蛋白について仕事をしている。また Ledig, Palat らは phoshatide Peptide について, Mark, Godin は睡眠時のアミノ酸, セロトニン代謝について研究している。脂質のグループでは細菌をやっている Rebel, 脳の Shall, 眼の水晶余の Klein, 肝の Song (韓国) らがいる。その他眼レのンズのクロモゾームをやっている Virmanx, Histochemistry の Sensenbrenner, 網膜の Histochemistry の Gosbamy (インド), 水晶体 Myokinase の Klethi, 肝のリボゾームの Simler, Maria, などなどの多くの研究者がいる。日本人は4・5年前, 今放医研の中村氏が半年位, 公衆衛生院の小林氏が丁度小生と同じ頃からこの3月まで留学された。ストラスブールはフランスではパリ, マルセイユと共に生化学の1つの中心だそうで医学部の生化の他, 理学部の生化 (東大江上研吉田君が留学中), 高分子研(東大野田研より留学中) などがありいろいろ便利である。ここでは研究者の待遇はアメリカに比べればよくないし, 交流や刺激も少ないきらいはあるがそこはフランス流に, ブドウ酒, フランス料理, オペラ, コメディなどを楽しみながら, ゆうゆうと良い仕事をする方法はないものかとこの研究所で思案している。まだこの研究所は出来て1年たらずで業績もこれからというところ, 今後に期待したい。

編集後記

いままで5年間つづいてきた「神経化学」をこの号から新装のもとに再発足させることとなった。発行が予定よりたいへんおくれて, 会員各位に御迷惑をかけたが, 何しろ編集の係が素人ばかり, 専任者がいるわけではなく, 技術的には専門家の援助はえているけれども, その辺の事情を御賢察頂きたいと思う。しかし, 何としてもこの発行のおくれは深くお詫び致さねばならない。

神経化学懇話会が神経化学会に発展したのにともなって, 雑誌「神経化学」を本印刷とすることとなったのである。この号には原著論文2篇を掲載したが, いづれも昨年の神経化学懇話会で発表されたものであり, 従来は「神経研究の進歩」に一括して掲載していたものを, 希望のかたがただけ, 順次本誌に「原著論文」として掲載することとしたわけである。昨年度発表されてまだこの希望を申しでておられないかた, あるいは昨年の発表とその後の研究の発展をまとめて論文となさるかたなど, すすんで本誌を利用されるようおまちしている。文献としてのちのちまで引用されるような原著論文を掲載することが, その雑誌のすぐれていることになるのだが, 会員各位の寄稿をえて本誌はその方向に発展させて行きたいと思う。

原著論文とならんで, 綜説をのせることも編集委員のあいだで討議されている。神経化学の種々の領域で, またこれと関連した領域での綜説はむしろ多すぎるぐらいいろいろの雑誌に掲載されていることであるから, 本誌には外国の綜説の焼直しではなく, 当り役の綜説者と的をいた問題をとらえて, 綜説を依頼したいと予定している。会員各位からの積極的な御提案を期待する次第である。

従来から本誌にのせて来た「神経化学文献」は, 昨年からの形式でさらに見やすいかたちにして, つづけて行く予定である。この文献欄の掲載の形式, 文献取捨の規準など問題の多いことではあるが, 会員各位からの御提案をえて, より利用しやすいものとして行かねばならない。

そのほか, 神経化学関連の国際機関のニュースを会員にお知らせすることも本誌の任務であると考えている。次号にはこの7月, フランス, ストラスブルグで開かれる第1回国際神経化学会のプログラムを掲載できる予定であるが, この国際会議を機会に国際神経化学会が常置の学会として発足することであるので, そのような意味からも, 本誌は日本の神経化学会の機関誌として有用なものとならなければならないであろう。

やっと再発足第1号が出たばかりであるが, 会員自身の雑誌として生長させるよう, 編集委員を叱咤することを会員の義務であるとお考えねがいたい。御希望・御提案により, 本誌のいかなる点でも改良することに吝であってはならないと思う。(高垣, 6月27日記)

「神経化学」投稿規定

1. 神経化学領域の研究報告論文（原著）の投稿をうけつける。神経系の化学的研究に直接貢献する論文をうけつけるほか，臨床報告・短信をも含めて広く神経系の化学に関連の深い論文を歓迎する。
2. 投稿論文の著者はすべて「日本神経化学会」の会員でなければならない。
3. 投稿する原著論文は，他誌に掲載されずまた掲載予定でないものに限る。
4. 投稿論文の送り先：

   東京都新宿区信濃町35
   慶応大学医学部生理学教室内
   日本神経化学会事務局宛

5. 掲載料および別刷料：掲載料は論文の刷り上り4頁(400字詰原稿用紙約15枚に的当）まで無料としそれ以上は著者負担とする。この無料の頁数には，図・表・文献のスペースを含むものとする。なお，第1報，第2報の如く分割して投稿する場合は，編集委員会の判断にもとづき，第2報以下は超過したものとみなし，著者負担とすることがある。

   別刷は50部を単位としてその倍数の申しこみをうけつける。別刷は全部有料（実費）とする。
6. 投稿論文の採否は編集委員会が決定する。受理した論文の体裁がこの規定に従わない部分は編集委員会において訂正することがある。
7. 投稿論文は簡潔な日本語（原則として，常用漢字・現代かなづかい）であって，400字詰原稿用紙に楷書横書としたものでなければならない。
8. 論文の構成（緒言，方法，結果，考察，総括，文献など）は原著論文としての慣例に従うことが望ましい，総括（結論）は論文の最初に掲載し，800字以内のものとする。
9. 表題・著者名・所属には英文・ローマ字書きをそえる。
10. 図，および表：図および表は本文と別の用紙に書き，本文中にその掲載位置を明記する。図（および写真）の説明はさらに別の用紙に記載し図の原稿（あるいは写真）に付する。図の原稿は墨で浄書することが望ましいが，縮小率などの関係から編集委員会でトレースし直すことがある。表および図（写真を含む）の組版代などの実費は著者負担とする。
11. 文献：参照文献は本文中には著者名・年号を括弧に入れて示し，本文の最後に一括して著者のABC順に記載する。文献記載の方法は J. Neurochem. の規定に準拠する。
12. 用語および略語：物質名および生化学用語（単位など）の記載のならびに略語の使用は，原則として Biochem. J. の規定に準拠する。薬剤名，慣用の略語を用いるときは，その最初に用いられるところに脚註として説明を加える。

編集委員（ABC順）

石川　晋次　　柿本　泰男　　高坂　睦年　　黒川　正則
成瀬　　浩　　西塚　泰美　　高垣玄吉郎　　高橋　　良
高橋　康夫　　塚田　裕三　　宇尾野公義　　吉田　　博

昭和42年9月25日　印刷
昭和42年9月29日　発行

神経化学　Vol. 6, No. 1.

編集者　（代表）塚田裕三
編集所　東京都新宿区信濃町35番地
　　慶応義塾大学医学部生理学教室内
　　日本神経化学会
印刷・製本　東京プレス
発行所　東京都文京区曙町11番地
　　緒方書店

定価1部 300円

目　　次

巻　頭　言： 「神経化学」の新発足にあたって ……塚田裕三…… 1

原　　著： 臓器蛋白質，特に脳蛋白の抽出分離に関する研究……
…塚田裕三，野口鉄也，植村慶一，野村正彦（慶大・医・生理）…… 3

脳のグルタミン酸代謝――ネコ脳灌流法による――
……中島良彦（岡山大・医・精神神経）……11

口演要旨： 第9回神経化学懇話会口演要旨Ⅰ ……21

文　　献： Neurochemistry Current Titles……35

雑　　報： Developing Brain (No. 19 および No. 20) ……59

研究所めぐり： ストラスブール大学生化学研究室と神経化学センター研究所
……植村慶一……63

編集後記 ……64