

Diss. ETH Nr. 6719

VERGLEICH VERSCHIEDENER METHODEN ZUR BESTIMMUNG  
VON BINDUNGSGLEICHGEWICHTEN AN SYNAPTOSOMEN

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
der

EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

BARBARA BOHNENBLUËT

eidg. dipl. Apothekerin

geboren am 19. April 1950

von Wynau (Kt. Bern)

angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. H.G. Weder, Referent

Prof. Dr. M.H. Bickel, Korreferent

1981

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden mit den Liganden Diazepam, Serotonin, Haloperidol und Spiroperidol Bindungsexperimente an Synaptosomen mit verschiedenen Methoden durchgeführt. Die Synaptosomen wurden nach der Methode von Gray und Whittaker (15) aus Rattenhirn isoliert. Es wurde mit der Filtrations- und der Ultrazentrifugationsmethode, sowie mit der Gleichgewichts- und der Rühr-Flow-Dialyse gearbeitet. Dabei wurden die Vor- und Nachteile der einzelnen Techniken, sowie der Einfluss der Methoden und einiger experimenteller Parameter auf die Resultate der Bindungsstudien beschrieben. Es konnte gezeigt werden, dass das Ausmass und die Eigenschaften der beobachteten Bindung, sowie die charakteristischen Grössen  $K_m$  (Affinitätskonstante) und  $V_{max}$  (maximale Anzahl Bindungsstellen) von den experimentellen Bedingungen und von der Methode abhängig sind. Die UZ-Methode erwies sich als am besten geeignet zur Durchführung von Bindungsexperimenten an Synaptosomen.

## SUMMARY

In the present work binding studies with synaptosomal membranes were carried out. The synaptosomal membrane fractions were prepared by a modified method of Gray and Whittaker (15). Different ligands (diazepam, 5-hydroxytryptamine, haloperidol and spiroperidol) were examined by the following methods: filtration and centrifugation technique, equilibrium- and steady-state-dialysis. The advantages and disadvantages as well as the influence of the methods used and different

parameters on the binding were described. The results indicate, that the binding properties, termed as affinity constant  $K_m$  and maximal number of binding sites  $V_{max}$ , are dependent on the experimental conditions and the method used. The performed studies allow to conclude, that the centrifugation technique is the most convenient method to characterize specific ligand-receptor-equilibria with neuronal membranes.