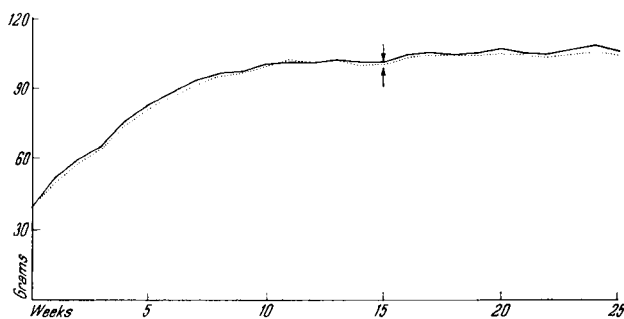


Sixteen female hamsters between 22 and 26 days of age were litter-mate distributed into two equal groups, both having the same initial weight, and were reared during the first part of the experiment for 15 weeks on the purified diet presented in the Table. During this period both groups received to drink tap water *ad libitum*. From the 15th week, i. e., after both groups had exhibited consistently for four weeks a growth "plateau", group 1 received to drink daily 100 cm³ of distilled water, and group 2 100 cm³ of a raw saliva-distilled water mixture¹. During this second part of the experiment, which was carried on for 10 weeks, both groups continued receiving the ration presented in the Table.

Both groups were weighed weekly. These studies were carried out between November 1950 and March 1951.



Average growth curves of the two groups: group 1 received distilled water throughout the whole experiment, and group 2 received distilled water during the first 15 weeks and a raw saliva-distilled water mixture during the following 10 weeks.

Group 1 ————— Group 2 ···········

The figure presents the average growth curves of the two groups, during both the first and second parts of the studies. During the first part of the experiment (preliminary period, from the 1st to the 15th week) both groups grew at the same rate. The same occurred during the second part of the experiment (test period, from 15 to 25 weeks of age). Therefore it is concluded that, under the conditions of these studies, human saliva does not promote the growth of hamsters that have already attained most of their normal growth.

The present results may be interpreted in various ways: it might be that in "plateau" hamsters the growth factor of saliva does not exert any action at all, or that the amount of the active principle contained in the saliva given was insufficient to promote the growth of the animals. In this connection one could mention that, for example, the growth hormone of the hypophysis (somatotrophin) increases very markedly the growth (gigantism) of normal "plateau" rats when given in daily doses of 0.40 mg to 2.0 mg². It might be of interest to repeat the present experiment when the growth factor of saliva has been concentrated, or isolated in pure or nearly pure form.

HUMBERTO GRANADOS³ and HENRIK DAM

Department of Biology, Polytechnic Institute, Copenhagen, June 21, 1951.

¹ The saliva-water mixture contained 67% saliva and 33% water. The saliva used was a mixture of male and female saliva (50% of each) collected without stimulation every day from 8 healthy subjects between 19 and 32 years of age. The female subjects did not donate their saliva during the days they were menstruating.

² H. SELYE, *Textbook of Endocrinology* (Acta Endocrinologica, Université de Montréal, Montréal, Canada, 1947), p. 239.

³ Present address: Physiological Institute, University of Basle, Switzerland.

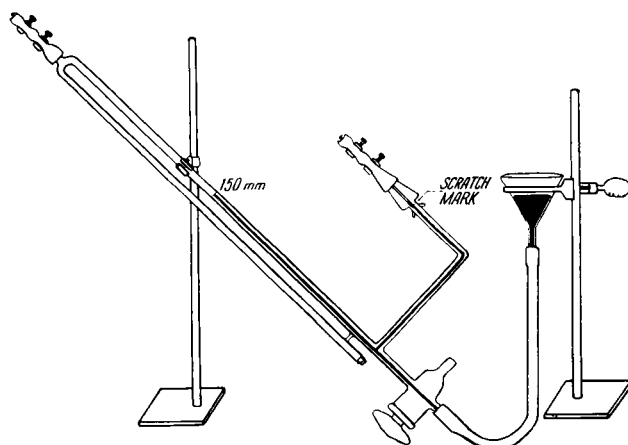
Zusammenfassung

Menschlicher Speichel wurde mit Wasser gemischt (67% Speichel + 33% Wasser) und Hamstern als Trinkflüssigkeit gegeben. Die Versuchstiere hatten ungefähr das Normalgewicht ausgewachsener Individuen. Ihr Wachstum wurde nicht angeregt. Dies steht im Gegensatz zu der früher festgestellten Wirkung von menschlichem Speichel auf wachsende Hamster.

PRO LABORATORIO

Modified Method for Calibration of Warburg Manometers¹

In the calibration of Warburg manometers with mercury the following modification of the procedure for filling the manometer, described by LOOMIS² has been found to be both accurate and rapid.



Warburg Manometer calibration assembly.

As indicated in the figure, the manometer is clamped in a fixed inverted position on a ring stand and connected by rubber tubing to a mercury reservoir. The open end of the manometer is plugged with a small rubber stopper. A two and a half inch section of rubber tubing of suitable diameter is fitted over each of the remaining openings. Mercury is allowed to flow into the manometer through the stopcock. The angle of inclination of the manometer and the height of the mercury reservoir are adjusted so that the mercury rises a few millimeters above the calibration lines. With the stopcock open, the ends of the two rubber sections are closed with pinch clamps (or screw clamps as illustrated) and the mercury columns in each arm of the manometer are forced down to the calibration lines by applying pressure to the rubber sections with screw clamps. The stopcock is then closed, the rubber attachments removed, and the mercury poured into tared beakers and weighed. This procedure has been found to allow a rapid and precise adjustment of the mercury levels.

JESSE W. TIEMAN and JAY V. BECK

Pennsylvania Agricultural Experiment Station, State College, Pa., April 10, 1951.

¹ Authorized for publication on March 15 1951, as paper No. 1662 in the journal series of the Pennsylvania Agricultural Experiment Station.

² W. F. LOOMIS, *Science* 109, 491 (1949).

Résumé

Une modification de la méthode Loomis pour calibrer le manomètre Warburg est proposée. Cette modification rend la méthode plus rapide et plus exacte et, par conséquent, facilite la calibration. Dans cette modification les niveaux du mercure s'ajustent par action mécanique et il n'est donc pas nécessaire d'incliner le manomètre à la position désirée.

PRO EXPERIMENTIS

Zur Technik des histochemischen Nachweises von Esterasen

GOMORI¹ publizierte als erster eine Technik zur histiotopen Erfassung von Lipasen. Da sie wegen ihrer Einfachheit geeignet schien, entschlossen wir uns, die Reaktion einer Prüfung zu unterziehen und sie gegebenenfalls zu verbessern.

Auf Grund zahlreicher Zweifel (Literatur bei NACHLAS und SELIGMAN²) an der Spezifität der Reaktion untersuchten wir die Spaltung des beim histochemischen Nachweis verwendeten Substrates – Tween 60 – durch eine unspezifische Esterase (Leber) und eine Lipase (Pankreas) mit Hilfe elektropotentiometrischer Titrations. Aus diesen Bestimmungen ging eindeutig hervor, daß die Reaktion nicht nur für Lipasen spezifisch ist, sondern auch unspezifische Esterasen erfaßt, weshalb wir für diesen Nachweis die richtigere Bezeichnung einer «Esterasenreaktion» vorschlagen.

Mit der gleichen Methode (elektropotentiometrische Titration der Tween-60-Spaltung) untersuchten wir den Einfluß verschiedener Reaktionsbedingungen auf die Spaltung des Tween 60 und kamen zum Teil zu neuen Resultaten, die zu einer Verbesserung der histochemischen Methode ausgenützt werden konnten. So verzichteten wir unter anderem im Inkubationsgemisch auf den von GOMORI¹ angegebenen Zusatz von Glycerin und setzten die Inkubationstemperatur von 37°C auf 45°C hinauf. Durch diese Änderungen konnten wir die Inkubationszeit wesentlich verkürzen.

Wir bestimmten ferner mit demselben Verfahren die Aktivitätsverluste bei den verschiedenen Manipulationen, die zur Herstellung histologischer Präparate unumgänglich sind. So fanden wir zum Beispiel, daß bei dem von uns empfohlenen Paraffinschnittverfahren die erwähnten Aktivitätsverluste bis zu Beginn der Reaktion 25% der ursprünglichen Aktivität betragen.

Bei histochemischen Reaktionen ist als wichtige Fehlerquelle stets die Möglichkeit von Diffusionsvorgängen zu berücksichtigen. Wir konnten eine solche bei vorschriftsgemäßer Durchführung der Methode ausschließen, doch machten wir die Beobachtung, daß das Enzym bei unsorgfältigem Aufziehen und Trocknen der Schnitte sehr stark diffundieren kann.

Das ursprünglich von GOMORI vorgeschlagene Überziehen der Schnitte mit einem Kollodiumfilm¹ oder Durchtränken der ganzen Blöcke mit Azetylzellulose³ erwies sich als ungenügender Schutz vor Diffusion. Als sicherstes Verfahren fanden wir die Inkubation der nicht entparaffinierten Schnitte.

Außer dem Paraffinschnittverfahren bewährte sich für bestimmte Objekte auch das zuerst von SCHULTZ-BRAUNS¹ angegebene Messertiefkühlverfahren, das nach unserer Ansicht auch für andere histochemische Nachweisreaktionen geeignet sein dürfte.

Wir² bestimmten ferner mit einem neuen Verfahren die Sensibilitätsgrenze unserer Methode, die bei 20–25 µM Tween-60-Spaltung liegt (vgl. GOMORI³).

Des weiteren konnten wir eine Methode entwickeln⁴, die eine quantitative Auswertung der Reaktion erlaubt. Das Prinzip dieses Verfahrens besteht in einem kolorimetrischen Vergleich der Reaktionsintensität im Präparat unbekannter Aktivität mit derjenigen eines Präparates bekannter Aktivität.

R. RICHTERICH

Anatomisches Institut der Universität Basel, den 15. Mai 1951.

Summary

A method for the demonstration of lipase activity *in situ* was given by GOMORI. The author examined the specificity of the reaction, the loss of lipolytic activity during the necessary manipulations (fixation, dehydration, etc.) and the various sources of error (diffusion, unspecific reactions, threshold value of the method). A few modifications of the original technique, e. g. the incubation of the non-deparaffined sections, were necessary for obtaining optimal results. Furthermore, a method for the quantitative estimation of lipolytic activity was developed.

¹ O. SCHULTZ-BRAUNS, Zbl. Path. 50, 273 (1931).

² R. RICHTERICH, Acta Anat. (im Druck).

³ G. GOMORI, J. Lab. and Clin. Med. 34, 275 (1949).

⁴ R. RICHTERICH, Exp. Cell Res. (im Druck); Enzymologia (im Druck).

PRO EXPERIMENTIS

Osservazioni sul dosaggio colorimetrico della chinurenina e di altri derivati del triptofano

Per il dosaggio colorimetrico della chinurenina e di altri derivati del triptofano OTANI, NISHINO e IMAI¹ hanno impiegato la reazione con *p*-dimetilaminobenzaldeide. Dopo aggiunta di H₂O₂ si ha sviluppo di una colorazione per un limitato numero di composti: nelle prove di OTANI e coll. soltanto per chinurenina, *o*-aminoacetofenone, acido antranilico, acido *p*-aminobenzoico.

Il colore ottenuto con la chinurenina rimane però nella fase acquosa anche dopo ripetute estrazioni con butanolo, mentre le altre colorazioni vengono estratte da detto solvente. Si ottiene così una reazione specifica e applicabile per un metodo di dosaggio colorimetrico, in quanto il colore segue la legge di LAMBERT BEER.

Noi abbiamo controllato tale metodica e confermato le conclusioni di OTANI e coll.; questi Autori avevano determinato la chinurenina nel plasma e in poltiglie di organi di animali trattati con triptofano, trovando sempre una buona rispondenza del metodo impiegato.

Proseguendo queste nostre ricerche dal 1947² e dovendo estendere l'indagine alla determinazione di altri metaboliti del triptofano, abbiamo dovuto saggiare con la sud-

¹ G. GOMORI, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 58, 362 (1945).

² M. M. NACHLAS and A. M. SELIGMAN, Anat. Rec. 105, 677 (1949).

³ G. GOMORI, Arch. Path. 41, 121 (1946).

¹ S. OTANI, N. NISHINO e K. IMAI, Z. Physiol. Chem. 270, 41 (1941).

² E. GINOULHIAC, Acta Vitaminol. 1, 12 (1947).