

solution de procaine à 0,02 M et 8 ml d'eau distillée. Dans 1 h le pH monte de 7,85 à 8,45, et descend après un palier long à 7,5 en 24 h. Le pH d'une même quantité de sérum dans le même volume final descend de 8 à 6,35 en ajoutant 1 ml d'une solution d'acide pab. 0,02 M.

La figure 3 montre le spectre d'absorption UV de la procaine et de l'apab. (1 ml d'une solution aqueuse de 0,02 M, 1 ml de phosphate disodique 0,1 M, 1 ml d'eau distillée). Le tableau I donne les valeurs pour la variation du coefficient d'absorption molaire à différentes longueurs d'onde. On a admis pour ces calculs que la base libérée au cours de l'hydrolyse n'influe pas sur la variation de la densité optique.

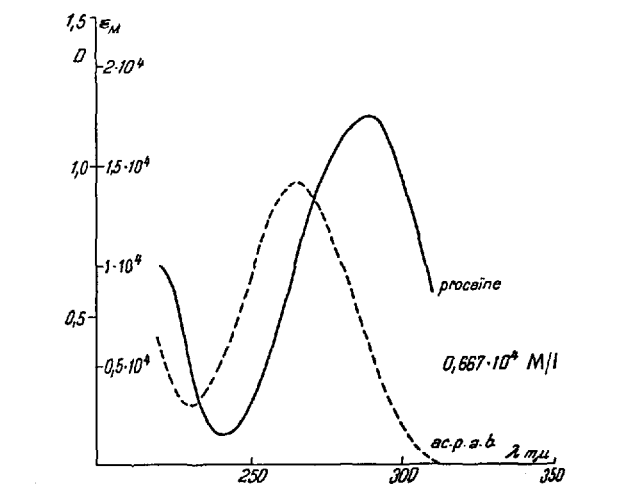


Fig. 3.

L'inspection de la figure 3 montre que la densité optique du milieu doit fortement baisser au cours de l'hydrolyse de la procaine, si l'on se place entre 290 et 310 mμ. Pour les dosages nous avons choisi la longueur

Tableau I. Variation du coefficient d'absorption molaire au cours de l'hydrolyse de la procaine

Longueur d'onde mμ	$\Delta \epsilon_M$
310	$0,82 \cdot 10^4$
300	$1,22 \cdot 10^4$
295	$1,28 \cdot 10^4$
290	$1,20 \cdot 10^4$
280	$0,64 \cdot 10^4$

d'onde de 295 mμ. Le tableau II donne les résultats d'une expérience effectuée sur un mélange de 1 ml d'un sérum humain, 1 ml d'une solution de procaine à 0,02 M ainsi que sur 3 mélanges témoins contenant le sérum seul, la procaine seule et le sérum (1 ml) avec 1 ml d'une solution d'acide pab. 0,02 M.

Tableau II. Variation de la densité optique au cours de l'hydrolyse de la procaine par le sérum à 37°

Composition du mélange	Densité optique après		
	0 min	60 min	24 h
sérum + procaine	0,72	0,66	0,21
sérum + acide pab.	0,21	—	0,22
sérum + eau 1 ml	0,05	0,05	0,06
procaine + 1 ml eau	0,66	0,65	—

Pour déterminer la densité optique du mélange on prélève 0,1 ml qu'on dilue avec 5 ml de PO_4HNa_2 0,1 M et de l'eau q.s. pour 25 ml. La variation de la densité optique déterminée à 295 mμ, divisée avec $1,28 \cdot 10^4$ donne le nombre de molécules de procaine hydrolysées. Le tableau montre que la quantité relativement importante de procaine mise en contact avec 1 ml de sérum est complètement hydrolysée en 24 h.

L. ROBERT

Service de chimie, Faculté de Médecine, Université de Paris, le 28 avril 1955.

Summary

A method is proposed for dosage of serum procainesterase by differential spectrophotometry, based on the decrease of the optical density at 295 mμ in the course of the hydrolysis.

Agglutininbildung durch verschiedene Proteinfraktionen von *Salmonella ballerup*

Nukleoproteide aus verschiedenen Bakterienarten sind als antigene Substanzen mehrmals beschrieben worden¹. Es bestehen jedoch wenig quantitative Angaben über deren Antikörperbildungsvermögen, besonders bei gramnegativen Bakterien. Um ein Bild über die antigene Wirkung des sogenannten H- oder Eiweissantigens bei Salmonellen zu gewinnen, isolierten wir aus den lebenden Zellen des nicht pathogenen Stammes *S. ballerup* das Nukleoprotein auf möglichst schonende Weise. In unseren Versuchen arbeiteten wir nicht nur mit dem Nukleoprotein, sondern auch mit dessen Spaltprodukten, der Nukleinsäure und dem Nukleohiston.

Das Nukleoprotein wurde aus den frischen, 18 h alten und mit Glaspulver desintegrierten Bakterien mit alkalischem Wasser bei pH 8,4 extrahiert und mit Essigsäure bei pH 4,6 ausgefällt. Die Substanz wurde durch mehrmaliges Umfällen mit Essigsäure gereinigt und enthielt dann 14,4 % N, 1,04 % P und 5,1 % Asche. Die Spaltung in Nukleinsäure und die Eiweisskomponente wurde durch zweistündiges Erwärmen in 0,5prozentiger Natriumkarbonatlösung bei 55° vollzogen. Den Proteinanteil entfernte man nach SEVAG, LACKMAN und SMOLENS² durch Ausschütteln mit Chloroform. Dieses Ausschütteln wurde so lange wiederholt, bis die Nukleinsäurelösung keine Spuren von Eiweiss mehr enthielt. Durch Zerlegen des entstandenen Chloroform-Proteingels mit Alkohol erhielt man den Proteinanteil, der durch mehrmaliges Auflösen bei pH 7 mittels Natronlauge, und Fällen mit Essigsäure bei pH 5,5 von der anhaftenden Nukleinsäure gereinigt wurde. Diese Substanz enthielt 15,3 % N und 0,05 % P. Sie gab eine negative Reaktion auf Pentosen, enthielt aber auch andere Kohlenhydrate. Die positive Reaktion auf Tyrosin sowie die negative Reaktion auf Tryptophan bedeutet, dass es sich um ein Histon handeln muss.

¹ O. T. AVERY und M. HEIDELBERGER, J. Exper. Med. 38, 81 (1923). – R. C. LANCEFIELD, J. Exper. Med. 42, 377 (1925). – A. K. BOOR und C. P. MILLER, J. Exper. Med. 59, 63 (1934). – M. G. SEVAG, D. B. LACKMAN und J. SMOLENS, J. Biol. Chem. 124, 425 (1938). E. MIKULASZEK, L. RZUCIDTO und H. WALECKI, Med. Doświadczalna Mikrobiol. 2, 323 (1950).

² M. G. SEVAG, D. B. LACKMAN und J. SMOLENS, J. Biol. Chem. 124, 425 (1938).

Aus der deproteinisierten Lösung erhielt man die Nukleinsäure durch Fällen mit Alkohol und reinigte durch mehrmaliges Umfällen. Die gereinigte Nukleinsäure enthielt 15,95% N und 6,8% P und gab eine positive Reaktion auf Desoxypentosen¹. Die Lösung zeigte eine starke Lichtabsorption im Ultraviolett (Max. bei 260 m μ) (Abb. 1).

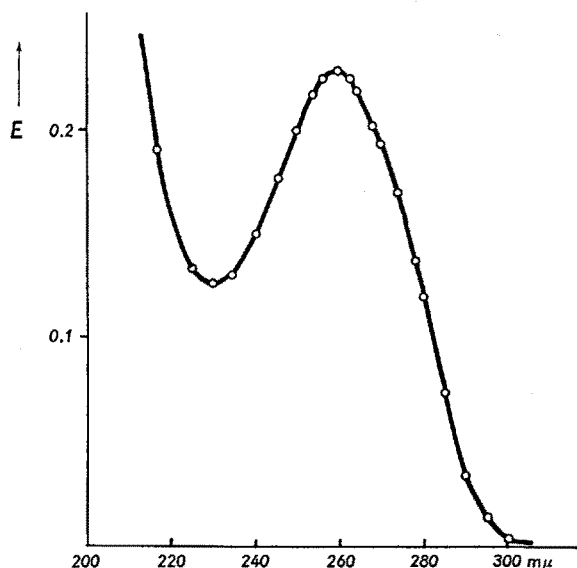


Abb. 1. Ultravioletspektrum der gereinigten Nukleinsäure von *S. ballerup*. Konzentration 1 mg% in destilliertem Wasser bei pH 7.

Immune Sera wurden durch anfangs subkutane und später intravenöse Injektionen von insgesamt 4–8 mg Substanz in 10–12 Dosen an Kaninchen gewonnen. Die Dauer der Immunisierung war auf 3–4 Wochen bemessen. Als Vergleich dienten Sera, die durch Immunisierung von Kaninchen mit azetontrockenen Bakterien erhalten wurden. Die quantitative Bestimmung der Agglutinine wurde nach dem Verfahren von HEIDELBERGER und KABAT² ausgeführt, indem man 1 cm³

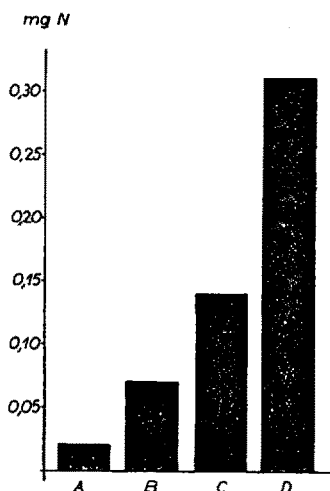


Abb. 2. Antikörperbildung durch verschiedene Proteinfractionen von *S. ballerup* in Milligramm Agglutinin-N ausgedrückt. A Nukleinsäure, B Nukleohiston, C Nukleoprotein, D ganze Bakterien. Die Werte der Kolonnen sind Mittelwerte von je 4 Versuchen.

¹ Z. DISCHE, Mikrochemie 8, 4 (1930); Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 55, 217 (1944).

² M. HEIDELBERGER und E. A. KABAT, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 31, 595 (1934); J. Exper. Med. 60, 643 (1934).

Serum mit steigenden Mengen einer standardisierten Suspension von *S. ballerup* agglutinierte, bis fast alle Antikörper an die zusammen geballten Bakterien gebunden waren. Der Agglutinin-Stickstoff wurde dann aus der Differenz im Stickstoffgehalte ermittelt. Es zeigte sich hierbei (siehe Abb. 2), dass die Nukleinsäure die schwächste und das intakte Nukleoprotein die stärkste antigene Wirkung unter den Stickstoffverbindungen besitzen. SEVAG und Mitarbeiter¹ erhielten durch Spaltung von Nukleoproteiden aus hämolytischen Streptokokken ebenfalls Nukleinsäuren, die bei der Immunisierung Antikörper erzeugen. Das vom Nukleoprotein abgespaltene Protein besitzt eine mittlere Aktivität. Die antigene Wirkung des Nukleoproteids wird demnach auf einer Zusammenwirkung der Nukleinsäure und der Proteinkomponente beruhen. Das Agglutininbildungsvermögen des Nukleoproteids wird immerhin von der Wirkung der ganzen Bakterien stark übertroffen, was wahrscheinlich eine Folge des anwesenden somatischen Antigens sein könnte. GUREVITCH und EPHRATI² untersuchten quantitativ die Bildung der Agglutinine bei den Kaninchen, die mit dem O-Antigen aus Typhusbakterien immunisiert wurden, fanden aber, dass diese nur 0,15 bis 0,17 mg N auf 1 cm³ Serum betragen.

S. ČMELIK

Zentralhygienisches Institut Zagreb, Jugoslawien, den 9. Mai 1955.

Summary

The author has examined the agglutinogenic property of nucleoprotein and its components, the nucleic acid and proteins from *S. ballerup*. The nucleoprotein was obtained by the extraction of fresh bacteria desintegrated by means of glass powder at pH 8.4 and precipitated with acetic acid at pH 4.6, and its components by splitting the nucleoprotein with 0.5% sodium carbonate at pH 5.5. The protein component was separated from the nucleic acid by forming a chloroform-proteingel. The protein component was submitted to a further purification by dissolving at pH 7 and precipitating at pH 5.5. Rabbits to whom 4–8 mg of the substance were given in 10–12 doses were used for the immunization. The agglutinins were determined by HEIDELBERGER and KABAT's quantitative method with a *S. ballerup* suspension. The maximum quantity of agglutinin is shown in mg nitrogen per 1 cm³ of serum. In comparison with the results obtained by the immunization with whole germs, it follows that, by means of nitrogen compounds, the nucleoprotein has the most substantial agglutinogenic effect, and the nucleic acid the poorest one.

¹ M. G. SEVAG, D. B. LACKMAN und J. SMOLENS, J. Biol. Chem. 124, 425 (1938).

² J. GUREVITCH und E. EPHRATI, J. Immunol. 55, 37 (1947).

Aktive und passive Immunisierung gegen heterologe Tumoren¹

Die Transplantation artfremder Tumoren gelingt nicht mit der üblichen Transplantationstechnik. Nach Vorbehandlung der Empfängertiere mit Röntgenstrahlen oder Cortison wachsen jedoch heterologe Tumoren während etwa 14 Tagen in beträchtlichem Masse weiter

¹ Die Arbeit wurde mit Hilfe des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung durchgeführt.