

Kontrollversuch gezeigt werden, dass bei den gewählten Konzentrationen der Komplexbildner dem  $[\text{Fe}(\text{Dipy})_3]^{2+}$ -Gleichgewicht kein  $\text{Fe}^{2+}$  entzieht. Der Durchmesser der Kreise in den Abbildungen 1 und 2 entspricht dem grössten beobachteten Fehlerintervall.

Die kolorimetrischen Messungen wurden mit einem Unicam-Spektrophotometer SP 500 durchgeführt. Bei den pH-Messungen bedienten wir uns eines Metrohm-Potentiometers E 187 mit kombinierter Glaselektrode.

Den Resultaten ist zu entnehmen, dass unter den untersuchten Aminosäuren Cystein und Histidin ein erheblich stärkeres  $\text{Cu}^{2+}$ -Bindungsvermögen aufweisen. Ausser den in den Abbildungen 1 und 2 aufgeführten Aminosäuren untersuchten wir Asparaginsäure, die sich wie Glutaminsäure verhält, ferner Arginin und Serin, die von Glycin nicht signifikant verschieden sind.

Bei den Peptiden zeigt Glycyl-Glycyl-Glycin kein stark abweichendes Verhalten gegenüber der einfachen Aminosäure. Das Tripeptid Glutathion verhält sich praktisch gleich wie sein Baustein Cystein. Auffallend ist das potenzierte  $\text{Cu}^{2+}$ -Bindungsvermögen von Histidyl-Histidin gegenüber seiner Komponente. Bei einer Konzentration von  $0,2 \cdot 10^{-2}$  bindet das Peptid rund 10mal mehr  $\text{Cu}^{2+}$  als die Aminosäure.

G. WOLFF, S. FALLAB und  
H. ERLÉNMEYER

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel,  
den 20. August 1955.

Summary

The capacity of binding copper ions of several amino-acids and peptides has been investigated. A direct colorimetric method measuring comparable values of bound  $\text{Cu}^{2+}$  has been developed.

Über die Wirkung von Mischungen eines antigenhaltigen Plasmas mit einem antikörperhaltigen Serum auf die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms

In einer vorhergehenden Mitteilung haben wir beschrieben, dass bei Zusammenbringen von Antiserum mit entsprechenden Antigenen eine deutliche emigrationsfördernde Wirkung an Leukozyten auftritt<sup>1</sup>. Da Stoffe, besonders Bakterienpolysaccharide, welche eine solche Wirkung an Leukozyten besitzen, eine wachstumsanregende Wirkung am Fremdkörpergranulom ausüben<sup>2</sup>, schien es möglich, dass ein Gemisch von Plasma und antikörperhaltigem Serum auch im tierischen Organismus eine solche Wirkung haben könnte. Diese Frage hat besonderes Interesse hinsichtlich des Entstehungsmechanismus der allergisch bedingten Bindegewebsreaktion.

Es wurden die Wirkung der Einzelkomponenten, verschiedene Antiseren und das homologe Serum oder Plasma und die Mischungen dieser Einzelkomponenten auf ihre Wirkungen am Fremdkörpergranulom in den von uns entwickelten Testen untersucht. Als Antigen-Antikörperseren wurden folgende geprüft:

1. Präzipitierendes Antihühnergansserum (BEHRING)
2. Präzipitierendes Antipferdeserum (S. B.).

<sup>1</sup> R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. (im Druck).  
<sup>2</sup> R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 9, 93 (1953); 10, 376 (1954). – R. MEIER, P. DESAULLES und B. SCHÄR, Arch. Exp. Path. Pharmacol. 224, 104 (1955).

Für die Untersuchung ist es Voraussetzung, dass unter vollkommen sterilen Kautelen gearbeitet wird. Diese wurden dadurch garantiert, dass folgende Vorsichtsmassnahmen getroffen wurden: Antigene und die verschiedenen antikörperhaltigen Seren wurden mit sterilen Tuberkulinspritzen in der gewünschten genauen Menge in der Kälte auf sterile Whatman-Papierstreifen aufgebracht und das Material lyophil getrocknet und gepresst. Die daraus hergestellten Presslinge wurden nach unserem üblichen technischen Verfahren zur Erzeugung von Fremdkörpergranulomen<sup>1</sup> Ratten dorsal eingepflanzt. Das entstehende Granulom wurde nach einem Intervall von 7 Tagen herauspräpariert und untersucht.

Das Ergebnis der Untersuchungen ist folgendes: Hühnerplasma und Pferdeserum und die verschiedenen Antiseren lösen auch bei Anwendung ohne jede Verdünnung praktisch keine granulomerregende Wirkung aus. Es kann in einzelnen Fällen eine ganz geringe, noch in der Fehlerbreite der Methode liegende Veränderung des Granulomgewichtes auftreten, doch ist sie in keinem Falle signifikant. Benutzt man zur Imprägnierung der Papierstreifen Mischungen von entsprechenden Mengen Antiseren in homologem Plasma, so erhält man deutliche granulomwachstumsfördernde Wirkung gegenüber den Kontrollen, die mit den Einzelkomponenten behandelt wurden. In quantitativer Hinsicht lässt sich dieser Effekt bei Verwendung von Verdünnungen von Antiserum zu Plasma noch deutlicher nachweisen, wie folgende Tabelle ergibt.

Granulomgewebegewicht

Tierzahl	Dosis	Absolut		Differenz mg
		mg	S.E.	
12 Kontrollen . . . .	—	146	± 12	—
6 Antihühnergansserum (BEHRING) . .	10 <sup>-5</sup>	156	± 12,7	+ 10
6 Hühnerplasma . . . .	10 <sup>-5</sup>	160	± 11	+ 4
6 Antipferdeserum (S.B.) . . . . .	10 <sup>-5</sup>	154	± 12,2	+ 8
6 Pferdeserum . . . . .	10 <sup>-5</sup>	150	± 11,7	+ 4
6 Hühnerplasma . . . . .	10 <sup>-5</sup>	221	± 14,3	+ 75
+ Antiserum 3/2	5 × 10 <sup>-6</sup>	186	± 12,7	+ 40
6 Pferdeserum . . . . .	10 <sup>-5</sup>	194	± 20,0	+ 48
+ Antiserum 3/2	5 × 10 <sup>-6</sup>	173	± 13,0	+ 27

Dieser Effekt lässt sich sowohl mit Antihühnergansserum als auch mit Antipferdeserum mit homologem Plasma bzw. Serum zeigen, obwohl im letzteren Falle die entstandene fördernde Wirkung weniger ausgesprochen war, als es mit Antihühnerserum der Fall war.

Analog wie bei den Befunden an isolierten Zellen ist zu erwägen, welche Stoffe für die beobachtete Wirkung in Betracht gezogen werden können. Nach unseren eigenen Versuchen sind Histamin, Serotonin, Adrenalin, Heparin und Bradykinin, die eventuell bei dieser Antigen-Antikörperreaktion auftreten, auszuschliessen, weil sie nur in Konzentrationen, die etwa der Gesamtmenge des angewandten Serums entsprechen, eine deutliche granulomfördernde Wirkung zeigen. Ebenso rufen sie zum Teil eine ausgesprochene Reizwirkung hervor, bzw. eine Gefässerweiterung an der Konjunktiva des Kaninchenauges, die von dem Antiserumplasmagemisch in diesen Konzentrationen nicht gegeben wird. Damit dürfte es ausgeschlossen sein, dass diese Stoffe für die beobachtete granulomfördernde Wirkung in diesen

<sup>1</sup> R. MEIER, W. SCHULER und P. DESAULLES, Exper. 6, 469 (1950).

Versuchen in Frage kommen. Ebenfalls ist es unwahrscheinlich, dass dieser Effekt bloss auf die Wirkung fremder Proteine zurückzuführen ist, da die einzelnen Komponenten der Antigen-Antikörperreaktion sich als praktisch unwirksam auf die Förderung der Fremdkörpergranulombildung gezeigt haben. Ausserdem ist das fördernde Produkt höchst wahrscheinlich ausschliesslich im Präzipitat der Antigen-Antikörperreaktion vorhanden; es dürfte sich somit um eine hochmolekulare bzw. in einer hochmolekularen Form vorliegende Substanz handeln. Welche Substanzen hier in Frage kommen, ist auf Grund der vorliegenden Untersuchungen noch nicht zu entscheiden; wir werden später auf diese Frage zurückkommen.

R. MEIER, P. DESAULLES und B. SCHÄR

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, den 15. August 1955.

#### Summary

It has been shown that local application of a mixture of precipitating antiserum with homologous plasma or serum promotes markedly the growth of granuloma tissue in the rat.

### Trypsin Sensitivity of Some Proteins of the Sea-Urchin Egg Before and After Fertilization An Electrophoretic Analysis

Upon fertilization the cytoplasmic proteins of the sea-urchin egg undergo a reorganization, as a result of which they acquire new properties<sup>1</sup>.

Recently it has been found<sup>2</sup> that the fraction precipitated at 50% saturation of ammonium sulphate from an extract of newly fertilized eggs of the sea-urchin *Arbacia lixula* is less sensitive to the attack of trypsin than the one from unfertilized eggs.

It appeared then interesting to study this different susceptibility as this may offer an opportunity for a better understanding of the nature of the changes involved. As a preliminary study, the above fraction has been submitted to an electrophoretic analysis before and after treatment with trypsin.

A main group of three components and a small fast component are present in the 50% fraction both from unfertilized and fertilized eggs of *Arbacia lixula*. The mobilities of the components of the fraction from fertilized eggs are somewhat higher than those of the unfertilized eggs. This point, however, will need further examination and will be discussed on a later occasion.

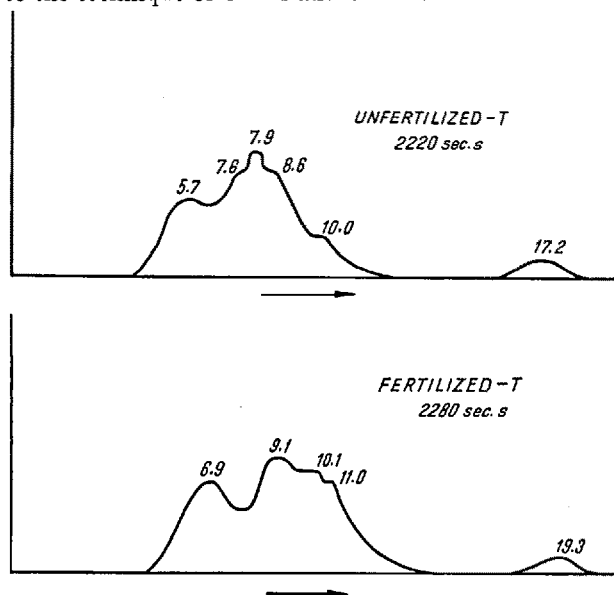
After a 30 min trypsin digestion, the main group is split off into five components in the fraction from unfertilized eggs whereas only four are present in the one from fertilized eggs. Here again all the components of the fraction from fertilized eggs have a higher mobility than those of the unfertilized eggs (Figure).

These results are a further evidence of the deep-lying changes the proteins of the sea-urchin egg undergo as a result of fertilization.

**Experimental.** Jelly-coat-free eggs of *Arbacia lixula* (unfertilized and about 15 min after fertilization) were homogenized in the cold with a buffered 1 M LiCl solution containing 0.2% of Versene. After centrifugation at 20,000 g in the cold for 30 min, the supernatant was precipitated with the addition of an equal amount of a

saturated solution of ammonium sulphate in phosphate buffer (0.007 M, pH 7.1). The collected precipitate was redissolved in 0.5 M KCl and dialysed against 0.1 N Na-bicarbonate. 1.0 cm<sup>3</sup> of this solution was then incubated at 32°C for 30 min with 0.1 cm<sup>3</sup> of a 0.05% solution of Armour crystalline trypsin in 0.002 N  $\text{HCl}$ . At the end of the incubation, 0.1 cm<sup>3</sup> of 0.01 N di-isopropyl-fluorophosphate (DFP.) was added (kindly synthesized for us by Dr. SANDERS, Cambridge) and after about 15 min the mixture was re-dialysed against bicarbonate as previously. The bicarbonate buffer proved quite effective for the electrophoretic analysis. Incubation and DFP. treatment were run at the same time in the controls.

For the electrophoresis, the Kern micro-apparatus was used. From the photographs of the interference diagrams the gradient curves were calculated according to the technique of CAZAL and CARLI<sup>1</sup>.



Electrophoretic diagrams of the 50% fraction of unfertilized and fertilized eggs of *Arbacia* after treatment with trypsin. Descending limb. Electrophoresis in 0.1 N Bicarbonate at a Pot. grad. of 6.3 Volts/cm.

Protein concentration was determined before each electrophoretic run in order to keep concentrations as constant as possible. This determination was done according to the technique of LOWRY *et al.*<sup>2</sup> using a solution of serum albumin as a standard.

The present investigations have been supported by grants from Consiglio Nazionale delle Ricerche and from Istituto Superiore di Sanità.

V. D'AMELIO

Laboratory of Comparative Anatomy, University of Palermo, Italy, July 10, 1955.

#### Riassunto

La frazione precipitata al 50% di saturazione di solfato di Ammonio da estratti di uova vergini e fecondate di *Arbacia lixula* presenta all'analisi elettroforetica un gruppo principale di tre componenti. Per trattamento con tripsina questo gruppo si risolve in cinque componenti nella frazione proveniente da uova vergini ed in quattro in quella proveniente da uova fecondate.

<sup>1</sup> J. RUNNSTRÖM, Adv. Enzymol. 9, 278 (1949). – A. MONROY, Intern. Rev. Cytology (in press).

<sup>2</sup> G. GIARDINA and A. MONROY, Exper. Cell Res. (in press).

<sup>1</sup> P. CAZAL and G. CARLI, Sem. Hop. Paris 30, (1954).

<sup>2</sup> O. H. LOWRY, N. J. ROSENBOROUGH, L. A. FARR, and R. J. RANDALL, J. biol. Chem. 193, 265 (1951).