

Measurements of the spacings and relative intensities from the electron diffraction patterns are shown in the Table. In this Table are also shown the X-ray diffraction data of natural apatite<sup>10</sup>. The comparison of both data have satisfactorily shown agreement in the spacing values and in the relative intensities; therefore it follows that the crystalline component of the shark enamel has the same structure of the mineral apatite as is present in human enamel. As occurs in human enamel<sup>11</sup>, electron diffraction patterns clearly showing preferential orientation of the crystalline component were also obtained (Figure 3). The enamel of the shark *Odontaspis*, having its ultrastructure very similar to the human's enamel and having been now established the identification of its crystalline component as natural apatite, can be concluded to be a true enamel.

The ease with which the crystalline apatite of the shark *Odontaspis* is detached from the enamel in tooth sections makes it a very convenient material for the study of its ultrastructure, as well as a suitable source of tooth apatite for crystallographic studies. Studies to establish the detailed orientation of these rods in the shark tooth enamel is under course and will be published elsewhere.

**Résumé.** L'auteur constate que dans la dent du Requin du genre *Odontaspis* l'ultrastructure de la substance qui recouvre la dentine est morphologiquement très semblable à celle de l'émail de la dent humaine. Par diffraction électronique le composant cristallin de l'émail du Requin a été déterminé comme étant de l'apatite. Ces résultats montrent que le revêtement externe de la dent d'*Odontaspis* peut être considéré comme un véritable émail.

HELENA DE SOUZA SANTOS and  
W. DA SILVA SASSO

*Electron Microscopy Section, Polytechnical School, University of São Paulo; Department of Histology, Faculty of Pharmacy and Odontology, University of São Paulo (Brasil), August 15, 1960.*

### Bildung von 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon und 3 $\beta$ -Hydroxy-17-keto- $\Delta^5$ -androsten (DHA) in Nebennieren- und Testes-Gewebe<sup>1</sup>

Kürzlich berichteten wir über das Vorkommen einerseits von 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon (3 $\beta$ , 17 $\alpha$ -Dihydroxy-20-keto- $\Delta^5$ -pregnen) in Schweinenebennieren und andererseits von DHA (3 $\beta$ -Hydroxy-17-keto- $\Delta^5$ -androsten) in Stierhoden<sup>2</sup>. Diese Befunde liessen zum ersten darauf schliessen, dass der über die  $\Delta^5$ -Steroide führende Biosyntheseweg der Androgene nicht, wie angenommen<sup>3</sup>, ausschliesslich für Nebennieren gilt, sondern auch für Hodengewebe; letzterer Schluss ist nur stichhaltig unter der Voraussetzung, dass das aufgefundene DHA nicht beigemischtem neoplastischem Gewebe entstammte<sup>4</sup>. Zum ändern war bei der bekannten Parallelität zwischen DHA-Ausscheidung und Nebennieren-Funktion das offensichtliche Fehlen von DHA in normalem Nebennieren-Gewebe<sup>5</sup> und Nebennieren-Venenblut<sup>6</sup> noch kein Beweis dafür, dass es in der Nebenniere überhaupt nicht gebildet werden kann und ausschliesslich als peripheres Abbauprodukt von adrenalem 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon betrachtet werden muss<sup>7</sup>.

Wir prüften deshalb, ob normales Nebennieren- und Hoden-Gewebe des Rindes *in vitro* fähig ist,  $\Delta^5$ -Pregnenolon in 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon überzuführen und letzteres zu DHA abzubauen.

Je 100–400 g schlachtfisches Gewebe wurde, wie früher angegeben<sup>8</sup>, bei pH 7,4 homogenisiert und gegebenenfalls in der Kälte fraktioniert zentrifugiert (5000  $\times$  g), so dass man 2 Fraktionen erhielt: R das Zentrifugat und L die überstehende Lösung. Sowohl Totalhomogenat wie Fraktionen R und L wurden unter Zusatz von 100 mg ATP, 100 mg DPN, 50 mg DPNH, 25 mg TPN und 5 mg TPNH pro 200 g Gewebe zwischen pH 7 und 8,5 während 3 h bei 35°C unter Durchleiten von 1–1,5 l Sauerstoff/min inkubiert. Die Steroid-Vorstufen wurden in 5–10 ml Äthanol gelöst oder suspendiert zugegeben. Die nach Eingiessen der inkubierten Homogenate in insgesamt 16 l Aceton erhaltene Aufschlammung filtrierte man nach 12 h bei 0°C, wusch den Rückstand mit Aceton, engte die vereinigten Filtrate auf 1,5 l ein und extrahierte sie mit 4  $\times$  800 ml Chloroform. Die meist 2–5 g wiegenden Chloroform-Rückstände wurden an 40–100 g Silicagel Davison adsorbiert und je nach Art des eingesetzten Substrates und des zu bestimmenden Umsetzungsproduktes mit 0,8–2 l Benzol-CHCl<sub>3</sub> (1:1) und 0,4–1 l CHCl<sub>3</sub>-Aceton(1:1) (für 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon) bzw. mit 2 l Benzol und 1 l CHCl<sub>3</sub>-Aceton (1:1) (für DHA) eluiert. Die CHCl<sub>3</sub>-Aceton(1:1)-Eluat-Rückstände (0,5–2 g) setzte man mit je 1 g Girard-Reagens T und 2 g Amberlite IRC 50 (H<sup>+</sup>) in 100 ml Äthanol 20 h bei 20°C um, isolierte auf übliche Weise die bei pH 1 leicht und schwer spaltbaren ketonischen Anteile und chromatographierte sie präparativ auf je 2–20 Blatt Papier mit dem System F/Cy-Be(1:2)<sup>9</sup>. Die den gesuchten  $\Delta^5$ -Steroiden entsprechenden Zonen wurden eluiert und analytisch im System Bush-B<sub>3</sub>-A und Propylenglykol/Toluol rechromatographiert; die Auswertung erfolgte halbquantitativ durch visuellen Vergleich mit Standardsubstanzen, wobei Farbreaktionen mit SbCl<sub>3</sub> (für  $\Delta^5$ -Steroide) oder alkalischem *m*-Dinitrobenzol (für 17-Ketosteroide) benutzt wurden.

Bei Verwendung von Tritium-markierten Verbindungen verzichteten wir auf die Girardierung, führten aber die Silicagelchromatographie differenzierter aus. Ferner wurde für die Isolierung von markiertem 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon, aus den Ansätzen mit  $\Delta^5$ -Pregnenolon-7 $\alpha$ -<sup>3</sup>H, nach der ersten präparativen Chromatographie eine zweite mit Propylenglykol/Toluol eingeschaltet. Das

<sup>1</sup> 173. Mitteilung über Steroide; 172. Mitteilung: P. WIELAND, K. HEUSLER und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* 43, 2066 (1960).

<sup>2</sup> R. NEHER und A. WETTSTEIN, *Acta endocrinol.* 35, 1 (1960).

<sup>3</sup> R. I. DORFMAN, in E. MOSETTIG, *Proc. IV. Internat. Congr. Biochemistry*, Vienna, Vol. 4, London (1959), 175.

<sup>4</sup> Zur *in vitro* Bildung geringer Mengen von DHA durch einen virilisierenden Hodentumor vgl. K. SAVARD, R. I. DORFMAN, B. BAGGETT, L. L. FIELDING, L. L. ENGEL, H. T. MCPHERSON, C. M. LISTER, D. S. JOHNSON, E. C. HAMBLIN und F. L. ENGEL, *J. clin. Invest.* 39, 534 (1960).

<sup>5</sup> Eine Ausnahme scheint foetales menschliches Nebennierengewebe zu bilden, dessen DHA-Gehalt mit zunehmendem Alter rasch abnimmt: E. BLOCH, K. BENIRSCHKE und E. ROSENBERG, *Endocrinol.* 58, 626 (1956).

<sup>6</sup> DHA ist bisher in menschlichem Nebennierenvenenblut nur in einem Fall von Virilismus und Hirsutismus nach ACTH-Stimulierung analytisch nachgewiesen worden: I. E. BUSH, J. SWALE und J. PATTERSON, *Biochem. J.* 62, P 16 (1956). – I. E. BUSH und V. B. MAHESH, *J. Endocrinol.* 18, 1 (1959). In 4 weitere Fällen handelt es sich um Patienten mit Mamm-Carcinom: R. E. LOMBARD, C. MORRIH und P. B. HUDSON, *Endocrinol.* 65, 426 (1959). – R. V. SHORT, *Biochem. Soc. Symposia No. 18*, 74 (1960).

<sup>7</sup> S. LIEBERMAN und S. TEICH, *J. clin. Endocrinol.* 13, 1140 (1953).

<sup>8</sup> F. W. KAHNT, R. NEHER und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* 38, 1237 (1955).

<sup>9</sup> Imprägnierung von WHATMAN-Papier No. 1, mit 20% Formamid in Aceton; absteigende Chromatographie; mobile Phase Cyclohexan-Benzol (1:2).

zweite 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon-haltige Eluat wurde nun nach Zugabe von 10–11 mg inaktivem 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon mit Acetanhydrid in Pyridin acetyliert und bis zur Konstanz der spezifischen Radioaktivität umkristallisiert. Gemäss Schmelzpunkt und papierchromatographischem Verhalten erwies sich das Produkt als reines 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon-acetat.

Für die Isolierung von markiertem DHA, aus den Ansätzen mit 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon- $^3\text{H}$ , wurde das entsprechende Eluat des ersten präparativen Papierchromatogrammes nach Zugabe von 1 mg inaktivem DHA im Bush-B<sub>3</sub>-System rechromatographiert und nach Abtrennung und Elution nochmals mit 2,5 mg inaktivem DHA vermischt. Die folgenden Kristallisationen bis zur Konstanz der spezifischen Radioaktivität lieferten ein nach Schmelzpunkt und papierchromatographischem Verhalten reines DHA.

$\Delta^5$ -Pregnenolon-7 $\alpha$ - $^3\text{H}$  (spezifische Aktivität: 739.749 ipm/ $\gamma$ ) stellten wir nach GUT und USKOKOVIČ<sup>10</sup> durch spezifische Tritiierung des 7 $\alpha$ -Brom-Derivates her und reinigten es kurz vor Gebrauch durch Verdünnen mit  $\Delta^5$ -Pregnenolon und Umkristallisieren. In fester Form war dieses Präparat nicht lange haltbar (Radiolyse). Das nach der WILZBACH-Methode<sup>11</sup> bereitete und nach SOLOMON et al.<sup>12</sup> gereinigte tritierte 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon-acetat besass eine spezifische Aktivität von 21.448 ipm/ $\gamma$  und das daraus durch Chromsäureoxydation gewonnene DHA-Acetat eine solche von 18.720 ipm/ $\gamma$ . Die Messungen wurden in einem «Tri-Carb»-Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometer (Packard, Inst. Comp. Inc.) ausgeführt<sup>13</sup> und die Ausbeuten unter Berücksichtigung des zugesetzten Trägermaterials nach den üblichen Formeln berechnet.

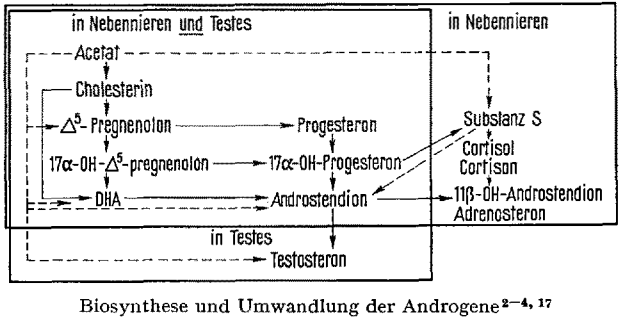
Wie in der Tabelle angegeben, konnte in den Inkubations-Ansätzen mit totalen oder fraktionierten (L bzw. R) Nebennieren- oder Testes-Homogenaten *ohne* Zusatz von Steroiden keines der beiden gesuchten  $\Delta^5$ -Steroide nachgewiesen werden. Die hier nur teilweise aufgeführten Vorversuche *mit* Steroiden haben ergeben, dass unter unseren Versuchsbedingungen im Falle von Nebennieren-Homogenat die 17 $\alpha$ -Hydroxylierung besser mit der überstehenden Lösung (L) und der Seitenkettenabbau besser mit dem Geweberückstand (R) durchführbar ist. Im Fall des Hodengewebes verlief die 17 $\alpha$ -Hydroxylierung mit der Fraktion L mindestens ebenso gut wie mit dem totalen Homogenat, wogegen die Seitenkette stets mit letzterem besser abgebaut wurde als mit jeder der beiden Fraktionen allein<sup>14</sup>. Alle Umsetzungen verliefen bei einem pH von 7–7,5 besser als bei einem höheren pH.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, gelang es sowohl mit normalem Nebennieren- wie Hodengewebe des Rindes einerseits  $\Delta^5$ -Pregnenolon in 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon, anderseits letzteres in DHA überzuführen. Die Ausbeuten waren teilweise so gering, dass zur Bestätigung der Umsetzungen Tritium-markierte Substrate herangezogen wurden. Aus technischen Gründen wurden die inaktiven Trägersubstanzen nicht zu Beginn, sondern erst während der Aufarbeitung zugegeben, so dass die bereits vor der Trägermaterial-Zugabe eingetretenen Verluste (max. 30%) nicht berücksichtigt werden konnten; die in der Tabelle wiedergegebenen Zahlen stellen somit Minimalwerte dar. Verschiedene Neben- und Folge-Produkte wie Progesteron, 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron, Androstendion, Testosteron und 11 $\beta$ - sowie 21-hydroxylierte Derivate, die für die Fragestellung von untergeordneter Bedeutung waren, analysierten wir nicht in allen Fällen.

Diese *in vitro* nachgewiesenen Umwandlungen lassen sich in das komplettierte Schema der Androgenbiosynthese in Nebennieren und Testes gemäss Figur einfügen. Damit sollen keine quantitativen Angaben über die rela-

tive und offensichtlich speziesabhängige Bedeutung der einzelnen Wege *in vivo* gemacht werden.

Nach den bisherigen analytischen Befunden scheint die  $\Delta^5$ -Steroid-Genese in normalen menschlichen Nebennieren im wesentlichen nur bis zur Stufe des 17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon zu gehe<sup>6,7,15</sup>, während sie bei neoplastischer Entartung offenbar bevorzugt bis zum DHA und weiter verlaufen kann<sup>16,17</sup>. Im Vergleich dazu ist dieser Biosyn-



Biosynthese und Umwandlung der Androgene<sup>2-4, 17</sup>

Umwandlung von  $\Delta^5$ -Pregnenolon und 17-Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon mit je 100 g Gewebehomogenat (Rind)

Homogenat aus	Zugesetztes Steroid <sup>a</sup>	Umwandlungsprodukte in $\gamma$	
		17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon	DHA
Nebennieren total	—	< 15	< 10
	Fr. R	< 15	< 7
	Fr. L	< 15	< 15
Nebennieren Fr. L	$\Delta^5$ -Pregnenolon	48–90	< 20
	$\Delta^5$ -Pregnenolon-7 $\alpha$ - $^3\text{H}$	19	—
	Fr. R	17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon	15–20
Hoden total	17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon- $^3\text{H}^b$	—	8
	—	< 2	< 3
	Fr. R	< 2	< 2
Hoden Fr. L	—	< 3	< 2
	$\Delta^5$ -Pregnenolon	74–162	< 4
	$\Delta^5$ -Pregnenolon-7 $\alpha$ - $^3\text{H}$	250	—
Hoden total	17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon	—	12–37
	17 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolon- $^3\text{H}^b$	—	30

<sup>a</sup> Je 50 mg inaktives bzw. je 25 mg mit  $^3\text{H}$ -markiertes Steroid.  
<sup>b</sup> Signiert nach der Wilzbach-Methode.

<sup>10</sup> M. GUT und M. USKOKOVIČ, Naturwiss. 47, 40 (1960).  
<sup>11</sup> K. E. WILZBACH, J. Amer. chem. Soc. 79, 1013 (1957).  
<sup>12</sup> S. SOLOMON, A. C. CARTER und S. LIEBERMAN, J. biol. Chem. 235, 351 (1960).  
<sup>13</sup> Wir danken Herrn Prof. K. BERNHARD, Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel, für die Überlassung des Zählers.  
<sup>14</sup> Vgl. über die Lokalisierung der Enzyme: W. S. LYNN und R. H. BROWN, J. biol. Chem. 232, 1015 (1958).  
<sup>15</sup> K. FOTHERBY und D. N. LOVE, J. Endocrinol. 21, 129 (1960).  
<sup>16</sup> Vgl. hierzu die Literaturangaben in 2.  
<sup>17</sup> M. GOLDSTEIN, M. GUT und R. I. DORFMAN, Biochim. biophys. Acta 38, 190 (1960).

theseweg in Testesgewebe wohl durchweg von untergeordneter Bedeutung. Dass die Umsetzungen in der  $\Delta^6$ -Reihe *in vitro* mit Testesgewebe (Rind) trotzdem besser verlaufen, stellt abgesehen von möglichen Spezies-Unterschieden nur einen scheinbaren Widerspruch dar, da nur in Nebennieren, nicht aber in Testes mit starken Konkurrenzreaktionen in Form der 11 $\beta$ - und 21-Hydroxylierungen zu rechnen ist.

**Summary.** The transformation of  $\Delta^5$ -pregnenolone into 17 $\alpha$ -hydroxy- $\Delta^5$ -pregnenolone, and of the latter into DHA, is shown to occur in homogenates and fractions thereof, both of bovine adrenal and testicular tissue. The relative significance of these reactions for the biogenesis of androgens in normal and neoplastic tissue is discussed.

F. W. KAHNT, R. NEHER, K. SCHMID  
und A. WETTSTEIN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel,  
17. Oktober 1960.

### Zur Frage des pH-Optimums des Pepsins

Es steht fest, dass die synthetisch hergestellten sogenannten Peptidsubstrate pH-Optima der Pepsinwirkung aufweisen, die im schwach sauren Gebiet um pH 4 liegen. Im Gegensatz hierzu herrscht noch weiterhin die Meinung vor, dass natürliche Proteine *durchweg* am besten zwischen pH 1,5–2 angegriffen werden. CHRISTENSEN<sup>1</sup> findet, dass sich bei denaturierten Proteinen das Optimum in das Gebiet von pH 2–4 verschiebt, was er für  $\beta$ -Lactoglobulin, Hämoglobin und Casein nachweist.

Wir haben zur Prüfung des Wirkungsbereiches des Pepsins 11 verschiedene zum Teil kristalline, zum Teil native Proteine untersucht, indem wir den Substratschwund bei verschiedenem pH im Zeitablauf verfolgten. Um den katheptischen Effekt, der in wenig gereinigten Präparaten von Pepsin zu beobachten ist, auszuschliessen, haben wir unser Enzym mehrfach umkristallisiert.

#### Methodik

**Enzym.** 5mal umkristallisiertes Pepsin nach Northrop.

**Methode.** Analog der Edestinmethode von BUCHS<sup>2</sup> Trübungsmessung auch für andere Proteine. Diese müssen löslich sein, und ihre isoelektrische Zone darf nicht in den Messbereich fallen, noch dürfen andere Flockungen vor sich gehen. Aus diesem Grunde kann Casein nicht untersucht werden, dessen Flockung durch Pepsin bis gegen pH 2,7 vor sich geht.

**Herkunft des Materials.** Pepsin kristallisiert von Worthington (Freehold, N. J.). Avenin nach Osborne selbst dargestellt. Gliadin, Edestin, Zein, kristallisiertes Ovalbumin, kristallisiertes Hämoglobin (Rind) von Nutrit. Biochem. C. (Cleveland, Ohio). Fibrinogen, Thrombin von Hoffmann-La Roche (Basel). Paracaseine siehe Text.

**Messinstrument.** Photometer Eppendorf. Da die Eichkurven der Substrate als gekrümmte Kurven verlaufen, verzichteten wir auf Wiedergabe der Substratkonzentrationen und drücken die Messungen in Skalenteilen aus (Ablesungswert zum angegebenen Zeitpunkt abzüglich Anfangsablesung). Die Verläufe, besonders die Optima, sind auch so gut erkennbar.

**Ansätze.** Stets 1 mg Enzym gegenüber 20–30 mg Substrat in einem Volumen von 6 ml, Pufferung durchweg mit Glykokoll-Salzsäure 0.1 M. Prolamine wurden mittels der Alkoholmethode in Lösung gebracht<sup>3</sup>.

### Versuchsergebnisse

#### 1. Edestin

pH-Werte	1.79	2.60	3.08	3.30	3.53	4.00
Nach 2 min	14.3	11.7	45.0	5.5	5.0	0.5
5 min	51.0	84.5	91.7	8.2	7.9	3.2
10 min	84.2	93.0	94.5	15.8	10.6	4.0
20 min	90.0	94.5	94.5	46.2	26.0	9.5

Ergebnis: Optimum bei 3.08.

#### 2. Gliadin

pH-Werte	1.94	2.04	2.41	3.34	3.85
Nach 2 min	50.1	59.9	54.7	18.5	17.6
5 min	73.2	67.0	65.1	53.0	26.5
10 min	78.3	63.1	77.9	63.0	44.5
20 min	78.9	71.9	70.9	66.0	63.0

Ergebnis: Optimum bei 1.94.

#### 3. Avenin

pH-Werte	1.87	2.36	2.58	3.46	3.55	3.85
Nach 2 min	26.2	11.1	8.6	5.5	11.4	10.5
5 min	59.6	37.7	20.3	7.8	16.9	17.3
10 min	71.4	57.1	44.1	16.8	18.0	22.6
20 min	71.3	60.2	60.3	32.0	32.2	27.7

Ergebnis: Optimum bei 1.87. Wirkungsabnahme nach rechts schneller als bei Gliadin.

#### 4. Zein

pH-Werte	1.91	2.12	2.58	3.06	3.25	3.53
Nach 2 min	16.1	13.0	18.1	flockt	flockt	flockt
5 min	33.9	31.1	29.4	flockt	flockt	flockt
10 min	47.2	56.8	46.1	flockt	flockt	flockt
20 min	63.2	69.9	53.0	flockt	flockt	flockt

Ergebnis: Optimum bei 1.91–2.12.

#### 5. Ovalbumin, nicht kristallisiert

pH-Wert	1.90	2.46	2.54	2.95	3.28	3.79	3.92
Nach 2 min	16.9	16.8	14.0	10.5	9.0	30.2	9.0
5 min	33.4	22.0	14.0	16.7	18.2	32.9	18.2
10 min	37.3	24.5	16.2	24.7	20.3	31.8	20.3
20 min	41.9	28.4	16.1	26.9	21.0	41.6	21.0

Ergebnis: Zwei Optima, bei 1.90 und bei 3.79!! Die Papierelektrophorese ergibt, dass Albumin im chemischen Sinne nur 45.4% des Präparates ausmacht; es sind zwei Gipfel der Conalbumine vorhanden und das Plateau des Ovomucoides.

#### 6. Ovalbumin, kristallisiert

pH-Werte	1.78	2.06	2.46	3.09	3.22	3.76
Nach 2 min	7.3	19.8	8.0	9.0	9.7	8.9
5 min	14.8	32.9	13.2	8.5	16.2	9.0
10 min	55.5	34.6	13.5	14.0	17.1	10.1
20 min	58.0	36.8	14.2	15.9	16.7	15.2

Ergebnis: Optimum bei 1.78–2.06. Das zweite Optimum des vorigen Versuches entfällt. Die Papierelektrophorese ergibt, dass 85.1% des Substrates Albumin sind.

#### 7. Fibrinogen

pH-Werte	1.64	2.28	2.93	3.25	3.73
Nach 2 min	13.9	18.3	24.4	13.5	8.9
5 min	42.2	48.5	48.1	28.0	19.4
10 min	48.0	55.0	58.9	44.2	20.0
20 min	50.6	56.6	60.1	52.9	34.9

Ergebnis: Optimum bei 2.93.

<sup>1</sup> L. K. CHRISTENSEN, Arch. Biochem. Biophys. 57, 163 (1955).

<sup>2</sup> S. BUCHS, Die Biologie des Magenkathepsins (Karger, Basel 1947).

<sup>3</sup> E. BERGER und E. FREUDENBERG, Med. exp. 3, im Druck (1961).