

inhibited by NaF (LIPMANN¹, WIELAND², BANGA³, GERENDAS⁴). We have examined the influence of NaF on the autoxidation of cysteine, which may be taken as an example of the enzymes containing the SH-group. The autoxidation of cysteine to cystine is maximal at a p_H of 7.7⁵. At this p_H we did not observe any effect of the addition of 0.1-N NaF on the rate of the autoxidation. If, however, a 50 mg% solution of cysteine is kept in the presence of fluorides at a p_H of ~ 1 and at a temperature of 20–25° C for 2 days, its colour reaction with sodium nitroprussiate was much less intensive than that of a control solution that was free of NaF.

Quantitative data at different p_H 's are recorded in table 1. In each experiment, 10 ml of a solution, containing 5 mg of cysteine hydrochloride and 42 mg of NaF, were kept at 38° C for 5 hours. Control experiments without the addition of NaF were run simultaneously. The p_H values were measured with chinhydron electrodes before the addition of cysteine (table 1). At times marked t (table 1), the amount of cysteine was determined according to the method of FOLIN⁶. The intensity of colour was measured with PULFRICH's step photometer, the filter S 72 and layers

Table 1

Autoxidation of Cysteine

E: experiment (with NaF), C: control (without NaF)

Solvent	Measured p_H values	Extinction coefficients ($d = 1$ mm)			
		$t = 0$	1	3	5 hours
n/10 HCl	E = 1.8 C = 0.9	E: 0.24 C: 0.25	0.18 0.23	0.07 0.23	0.03 0.23
m/10 Citrate buffer (p_H 3)	E = 3.7 C = 2.9	E: 0.25 C: 0.27	0.25 0.23	0.23 0.22	0.22 0.21
m/10 Citrate buffer (p_H 5)	E = 4.9 C = 4.9	E: 0.23 C: 0.27	0.21 0.24	0.18 0.19	0.16 0.20

of 1 mm being used. Table 1 demonstrates that NaF has a strong *accelerating effect* on the autoxidation on cysteine in 0.1-N HCl, whereas no effect was observed in less acid solutions. Using glyccoll buffer instead of citrate similar results were obtained.

While the optical rotation of cysteine is negligibly small, cystine is strongly *laevo-rotatory*. In a solution of cysteine in n/10 HCl (table 1) the optical rotation increased from 0° C (at $t=0$) to -0.16° C (2 dm) at 5 hours, thus indicating the formation of cystine.

According to the experiments recorded in table 2, the increased rate of oxidation of cysteine cannot be attributed to metallic impurities; for the same results were obtained with a preparation of NaF purified by precipitation with H_2S and ammonium sulfide, then recrystallized three times in a platinum dish and with

another preparation obtained by neutralizing pure HF (Merck, *pro analysi*) with $NaHCO_3$ (Merck, *pro analysi*).

While the cysteine hydrochloride (SCHUCHARDT) used in our experiments was free of iron, the preparations of sodium fluoride (May-Baker depuratum, Merck depuratum As-frei, Merck purum) contained from 1 to 10 microgram of Fe per 42 mg of NaF. The synthetic sodium fluoride used in the experiments, recorded in table 2, containing 0.4 microgram of Fe per

Table 2

Influence of Iron on the Autoxidation of Cysteine
Each flask contains 5 mg of cysteine and 10 ml of n/10 HCl

Experiments	42 mg NaF	0.72 mg $FeCl_3 + 6 H_2O$	0.74 mg $FeSO_4 + 7 H_2O$	Extinction coefficients ($d = 1$ mm)			
				$t = 0$	1	3	5 hours
1	+	—	—	0.26	0.19	0.12	0.06
2	+	+	—	0.25	0.17	0.08	0.06
3	+	—	+	0.23	0.16	0.07	0.03
4	—	+	—	0.25	0.24	0.25	0.25
5	—	—	+	0.23	0.24	0.25	0.25

42 mg of NaF, gave practically the same results as preparations containing more iron. Even amounts of 15 to 150 micrograms of iron did not alter these results. It is not very probable, therefore, that iron or an iron-fluorine compound is responsible for the catalytic effect of fluorides on the oxidation of cysteine. Since the same results were obtained in experiments carried out in paraffinized vessels, they cannot be ascribed to the formation of silico-fluoride complexes.

M. MUTAHHAR YENSON

Department of Medical Chemistry, University of Istanbul, 12th July, 1946.

Zusammenfassung

Fluoride beschleunigen die Autoxydation von Zystein zu Zystin in saure Lösung (p_H 1,8). Zusatz von Fe-Salzen hat keinen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit.

Sur l'origine d'asymétries particulières dans les diagrammes électrophorétiques de solutions de grande viscosité

Lorsqu'un champ électrique est appliqué à une cellule à électrophorèse, on sait que la conductibilité électrique de la solution tampon étant plus grande que celle de la solution protidique (effet DONNAN), le champ électrique est plus grand dans celle-ci que dans la première. Ainsi, la frontière qui migre dans la solution tampon (ascendante) pénètre dans une région où le champ électrique est moins intense que là où elle se trouve, et ses molécules les plus rapides subissent ainsi un freinage qui a pour résultat d'atténuer la dispersion moléculaire. Le contraire a lieu à la limite descendante, où la dispersion s'exagère au fur et à mesure que se poursuit l'électrophorèse. Il existe donc une asymétrie cathode/anode, inévitable et normale, même dans le cas où la substance qui migre est parfaitement homogène.

¹ F. LIPMANN, Biochem. Z. 206, 171 (1929).² H. WIELAND and W. FRANKE, Liebigs Ann. Chem. 464, 101 (1928).³ I. BANGA, Hoppe-Seyl. Z. 254, 165 (1938).⁴ M. GERENDAS, Hoppe-Seyl. Z. 254, 184 (1938).⁵ S. SAKUMA, Biochem. Z. 142, 68 (1923).⁶ O. FOLIN, J. M. LOONEY, J. biol. Chem. 51, 427 (1922).

D'autre part, le gradient d'indice, dans le très court espace qui correspond à une frontière séparant deux milieux d'indices différents, ne subit pas une variation régulière, ce qui se traduit, dans un tracé du type LONGSWORTH par exemple, par l'aspect dissymétrique des deux flancs du tracé (aspect bien étudié par TISELIUS et HORSFALL¹ à propos d'un travail sur les hémocyanines). Le flanc dirigé du côté de la solution tampon est toujours plus abrupt, surtout du côté descendant.

Mais, lorsqu'il s'agit de solutions de très grande viscosité (tel est le cas des myosines dont nous avons fait beaucoup d'études électrophorétiques), il existe une autre cause d'asymétrie qui peut donner lieu à certaines méprises. Ici, la cohésion moléculaire est élevée, la diffusion est faible; les frontières, au départ, apparaissent sous la forme d'une strie sombre très fine, à épaisseur presque constante, quelle que soit, dans l'enregistrement optique du type LONGSWORTH, la position du couteau. L'aspect du tracé est représenté fig. 1, A.

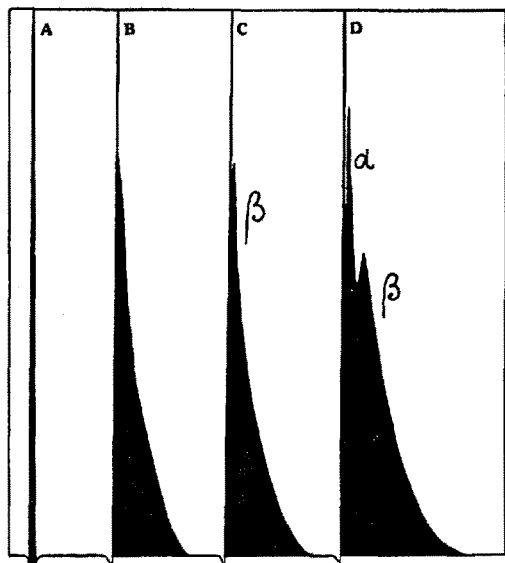


Fig. 1. Tracés électrophorétiques, enregistrement du type TISELIUS-LONGSWORTH, frontières ascendantes se déplaçant de droite à gauche, dans le dessin.

A. Aspect, au départ, d'une frontière séparant une solution de protéine très visqueuse d'une solution tampon. Le gradient est particulièrement élevé.

B. Après un certain temps d'électrophorèse, une frontière commence à se détacher d'une fine strie verticale, laquelle correspond à un phénomène de réflexion partielle.

C. Electrophorèse plus prolongée (même échantillon): le gradient correspondant à la substance β est maintenant nettement détaché de la strie de réflexion.

Les figures A, B et C se rapportent à une myosine d'EDSALL de muscles de lapin préalablement faradisés.

D. Cas de la myosine d'EDSALL du muscle normal de lapin, où, après une électrophorèse très prolongée, les deux composantes α et β sont nettement individualisées, tandis que subsiste la strie de réflexion dont la finesse et la constance de la largeur ne permettent pas qu'on l'interprète comme représentant le gradient d'indice d'une troisième composante.

Après un certain temps de transport électrique, l'asymétrie cathode/anode et la dissymétrie de chacune des frontières est devenue considérable, et l'aspect de la limite ascendante est atypique (fig. 1, B): au lieu que le

¹ A. TISELIUS et F. L. HORSFALL, Arch. Kemi, mineral et geol., 1, 13 (1939).

gradient d'indice subisse des variations progressives, ce qui dans le tracé se manifesterait par un *élargissement régulièrement progressif* du tracé considéré de haut en bas, celui-ci, de largeur *constante* sur la partie supérieure de son trajet, s'élargit ensuite assez brusquement, présentant un flanc incliné tourné vers la solution de protéine et un flanc vertical du côté de la solution tampon. Plus tard, à l'endroit où précédemment apparaissait un élargissement, se détache un gradient dont la forme devient bientôt classique, tandis que subsiste la strie très fine, de largeur homogène. L'aspect superficiel du tracé fait croire à l'existence de deux composantes, dont la plus rapide serait exceptionnellement homogène. Il n'en est rien: cette strie n'est que l'expression d'une *réflexion partielle* des rayons lumineux qui viennent frapper une frontière dont le gradient d'indice est si élevé qu'il existe une véritable discontinuité de phase, se comportant comme une surface réfléchissante. Rien de semblable ne s'observe à la frontière descendante, sauf au début de l'électrophorèse, lorsque les différences de champs électriques dont nous avons rappelé l'origine au début, n'ont pas encore réduit à suffisance le gradient d'indice.

Lorsque, dans un tracé électrophorétique, on se trouve en présence de semblables aspects, il peut donc être délicat de décider s'il s'agit d'une strie de réflexion partielle ou d'un gradient d'indice élevé, image d'une composante réelle. Seules des électrophorèses prolongées et un examen minutieux des clichés permettent d'en décider.

M. DUBUISSON

Laboratoire de Biologie générale, Université de Liège, et Chaire d'Actualités scientifiques, Université d'Alger, le 24 juillet 1946.

Summary

When electrophoretic studies are made on protein solutions of high viscosity, the beam of light used in the « Schieren » scanning method is partially reflected by the very sharp boundaries which leads to very asymmetric pictures taken by the TISELIUS-LONGSWORTH method.

Presenza di enteramina o di una sostanza enteraminosimile negli estratti gastrointestinali e splenici dei pesci e negli estratti gastroenterici delle Ascidie

La presenza di enteramina, o di sostanze enteraminosimili, risulta finora sicuramente dimostrata nella mucosa del tubo gastroenterico e nel tessuto splenico dei Mammiferi^{1,2} oltre che nelle ghiandole salivari posteriori dei Cefalopodi^{3,4} e nella ghiandola della porpora dei Muricidi⁵.

Di frequente l'esistenza della sostanza ci si è rivelata, già all'esame istochimico di materiale fissato in formolo, con il reperto, più o meno abbondante, di cellule a inclusi dotati di cromaffinità, di argentaffinità, di fluorescenza in luce di WOOD e di capacità di copulare, in ambiente alcalino, coi sali di diazonio: cellule entero-

¹ V. ERSPAMER, Naunyn-Schmiedeberg Arch. 196, 343, 366 (1940); Boll. Soc. ital. Biol. sper. 15, 828 (1940) e Naunyn-Schmiedeberg Arch. 196, 391 (1940).

² M. VIALI e V. ERSPAMER, Arch. Sci. Biol. 28, 101, 122 (1942).

³ M. VIALI e V. ERSPAMER, Arch. Fisiol. 40, 239 (1940).

⁴ V. ERSPAMER, Arch. Sci. Biol. 26, 296 (1940).

⁵ V. ERSPAMER (in corso di stampa).