

gangs erwähnten Versuchen als ein besonders gut hörender Fisch erwiesen. Die weitere, gleichzeitig akustisch mit dem Telephon und optisch vom Zuschauerraum aus vorgenommene Beobachtung führte in der Tat zu dem Ergebnis, daß die Klopfsignale von *Corvina* hervorgebracht wurden, und zwar zeigte sich dabei folgendes:

Zwei von den vier Tieren bildeten offensichtlich ein Pärchen. Das kleinere der beiden Partner, allem Anschein nach das Männchen (im folgenden daher mit einem Vorbehalt als solches bezeichnet), schwamm immer dicht hinter und unter dem trägen und größeren Weibchen (?) einher, bzw. blieb in einer charakteristischen Stellung unter ihm stehen, wenn es an seinem gewohnten Ort an einer der Seitenwände des Beckens verweilte. Der Kopf des Männchens befand sich dabei unter dem Bauch des Weibchens. Die übrigen beiden Corvinen hielten sich ganz abseits, bzw. schwammen ruhig mit den anderen Fischen des Beckens herum. Von Zeit zu Zeit verließ aber das Männchen seine Partnerin, schwamm auf eine der beiden anderen Corvinen zu – ohne daß diese dazu, außer durch ihre Anwesenheit, einen ersichtlichen Anlaß gegeben hätte – und jagte sie im Becken herum. *Bei diesem Herumjagen wurde nun jedesmal das Klopfsignal erzeugt.* Und zwar ließ sich auf Grund des Zusammenhangs zwischen der Lautstärke und der Entfernung, in der sich die Tiere jeweils vom Mikrofon befanden, feststellen, daß es immer nur das verfolgende Männchen war, welches «klopft». Praktisch: jedes Herumjagen war früher oder später vom Auftreten eines Klopfsignals begleitet. Gelegentlich klopft das Männchen schon, wenn es auf den anderen Fisch zuschwamm; in den meisten Fällen geschah das aber erst später und am häufigsten erst dann, wenn der Verfolger abschwenkte, nachdem er das fliehende Tier in einem letzten raschen, bogenförmigen Satz durch das ganze Aquarium vor sich her getrieben hatte.

Die frequente Produktion der Klopflaute setzte erst am Abend, kurz vor Hereinbruch der Dämmerung, ein. Die Klopfsignale traten zunächst immer häufiger auf, wurden dann wieder seltener, um nach Eintritt der Dunkelheit praktisch aufzuhören. Am frühen Vormittag hörte ich im Laufe einer Stunde bloß einmal ein kurzes Klopfsignal. Dies alles stimmte genau mit dem Verhalten des Männchens überein, welches erst gegen Tagessende die Nähe des Weibchens aufsuchte und mit dem Jagen der anderen Corvinen begann. Unter allmählich steigender Erregung wurde nicht nur immer häufiger gejagt und geklopft, sondern es wurden auch die Klopfsignale dadurch gleichsam nachdrücklicher, daß ihre Dauer länger wurde; es herrschten dann die langen Signale von 5 bis 7 Einzelklopflauten vor. Ob auch die Lautstärke variiert wurde, ließ sich mit meiner Anordnung nicht feststellen.

Während das Tier klopft, war ihm äußerlich nichts anzusehen, auch wenn es zufällig nahe der Glaswand vorbeischwamm. SMITH¹ konnte experimentell feststellen, daß die Lautäußerungen bei Sciaeniden durch die Aktion besonderer Muskeln verursacht werden, welche der Schwimmblase dorsal dicht aufliegen. Diese selbst dient als Resonator und bedingt die erhebliche Lautstärke. Die Tiere sollen im Meer auf größere Distanz hin zu hören sein. In meinem Fall war das Klopfen der Corvine auch dann noch frei in der Luft vor dem Aqu-

arium zu hören, wenn das Tier sich im Hintergrund des selben, also in 2 bis 3 m Entfernung von der Glasscheibe befand.

Die biologische Bedeutung der Klopfsignale dürfte auf dem Gebiet der Fortpflanzung liegen, indem sie eines der Mittel darstellen, durch welche das Männchen sich als solches gelten läßt. Bei den meisten Sciaeniden findet sich nach SMITH der erwähnte Muskel nur im männlichen Geschlecht, während auch nur von den Männchen Tonerzeugung beobachtet wurde. Alle mir für Sektion zugänglichen Corvinen waren Männchen und im Besitz der von SMITH beschriebenen Muskeln. S. DIJKGRAAF

Zoologisches Institut der Universität Groningen, den 8. Oktober 1947.

Summary

During a stay at the Naples Zoological Station in July the production of a knocking sound by *Corvina nigra* (Sciaenidae) was observed. Each sound signal consisted of a short series of knocks (ranging from 2 to 7) which followed each other at a rate of 8 per second. The sound-producing animal, probably a male, "knocked" every time when it was driving away another individual of the same species. All this occurred most frequently in the evening during twilight.

Penicillin and Ribonuclease

In a previous paper¹ we have shown that acridines (as well as other basic dyes) and streptomycin are inhibitors of ribonuclease because they form electroadsortion complexes with the ribonucleoproteids of yeast cells which are not attacked by the enzyme. We have also proved² that when acridines and streptomycin are added to a suspension of yeast cells, they compete for the same cellular substrate, i.e. the ribonucleoproteids.

We have now proved that penicillin³ inhibits also the activity of ribonuclease, the substrate being the ribonucleoproteids of the yeast cell. Our experimental procedure is as follows: On a series of watch glasses is placed 0.1 ml of a 1 p.c. suspension of bakers' yeast; this is dried at a temperature maintained below 60 °C, fixed during 10 minutes with alcohol and dried again; on the smears thus obtained is poured 1 ml of fluid, composed of 0.8 ml of water, 0.1 ml of a solution of crystalline ribonuclease (1 mg/2 ml)⁴, and 0.1 ml of a penicillin solution; for the controls, a fluid is employed composed of 0.9 ml of water and 0.1 ml of the same solution of ribonuclease. The watch glasses are kept in a thermostat at a temperature of 40 °C for a definite time and the experiments are interrupted by a careful washing. Staining with trypaflavin as previously described² enables to determine the amount of ribonucleic acid which is not broken down. A colorimetric reading (Stufenphotometer Zeiss, filter S 43) expresses the quantity of ribonucleic acid having resisted the attack of ribonuclease. For three of such experiments the results are given below. (Dura-

¹ L. MASSART, G. PEETERS, and A. LAGRIN, Arch. int. Pharmac. Thér., in press.

² L. MASSART, G. PEETERS, and A. VANHOUCKE, Exper. 3, 289 (1947).

³ We are very grateful to Dr. E. CHAIN for a gift of penicillin (Na salt, 1640 units per mg) and of streptomycin.

⁴ We thank Prof. LINDESTRÖM-LANG for his kind gift of this enzyme.

¹ H. M. SMITH, Science N. S. 22, 376 (1905). – Vgl. auch J. D. F. HARDENBERG, Zool. Anz. 108, 224 (1934). – M. B. DOBRIN, Science 105, 19 (1947). Zusammenfassende Darstellungen der Schallproduktion bei Fischen geben O. WEISS in Wintersteins Handbuch der vergl. Physiol. III/1, 305, und E. SCHARRER im Hb. der norm. u. path. Physiol. XV/2, 1241 (1931).

tion: 30 minutes for experiment No. 1, 40 minutes for experiment No. 2 and 3.)

Colorimetric reading	Experiment		
	1	2	3
1. For control, without ribonuclease and penicillin .	0.55	0.51	0.50
2. For control, with ribonuclease, but without penicillin	0.20	0.10	0.02
3. Ribonuclease with penicillin $1 \cdot 10^{-3}$	0.35	0.35	0.25
4. Ribonuclease with penicillin $1 \cdot 10^{-4}$	0.30	0.24	0.10
5. Ribonuclease with penicillin $1 \cdot 10^{-5}$	0.25	0.17	0.06
6. Ribonuclease with penicillin $1 \cdot 10^{-6}$	0.20	0.10	0.02

From these results, it appears that concentrations of $1 \cdot 10^{-3}$ and $1 \cdot 10^{-4}$ produce a strong inhibition and that concentrations of $1 \cdot 10^{-5}$ are slightly inhibitory in the conditions of our experiments.

Although it is not our intention to explain the antibiotic activity of penicillin by the sole fact that it inhibits ribonuclease, it is to be recalled here that KRAMPITZ and WERKMAN¹ found that penicillin interferes with the dissimilation of cellular ribonucleic acid and of sodium ribonucleate as a substrate for *Staphylococcus aureus* and other bacteria.

It is however worthy of note that two of the most active antibiotics (penicillin and streptomycin) inhibit the same enzyme. The mechanism of the inhibition is however not the same: streptomycin acts on the substrate, penicillin on the enzyme itself. Concerning this last fact we have proved by methods previously described² that penicillin and acridines (and of course streptomycin) do not compete for ribonucleoproteids. The difference in chemical structure offers an easy explanation of the results.

This research was aided by a grant of the Vander Stricht Foundation and of the Ella Sachs Plotz Foundation.

L. MASSART, G. PEETERS, and A. VANHOUCKE

Biochemical Laboratory (Biochemical Centrum) and Pharmacological Laboratory (Veterinary College), University of Ghent, August 22, 1947.

Résumé

L'activité de la ribonucléase vis-à-vis des ribonucléoprotéides de la levure est inhibée par la pénicilline.

¹ L. O. KRAMPITZ and C. H. WERKMAN, Arch. Biochem. 12, 57 (1947).

² L. MASSART, G. PEETERS, and A. VANHOUCKE, Exper. 3, 289 (1947).

Neuere Beiträge zur Technik der Fraktionierung der Serum eiweißkörper

Die neueren, so erfolgreichen Verfahren der Fraktionierung der Eiweißkörper des Blutserums mit Hilfe der Elektrophorese¹, bzw. der abgestuften Ausfällung durch

¹ A. TISELIUS, Biochem. J. 31, 1464 (1937).

verdünnten Alkohol¹, haben die ältere Methode der Elektrodialyse² etwas in den Hintergrund gedrängt. Eine Proteinfaktionierung kann in letzterem Falle zum mindesten bis zu einem gewissen Grade durch eine fortlaufende Entsalzung des Serums im Zusammenhang mit einer vorsichtigen Verringerung des p_H , durchgeführt werden. Ein derartiger Eingriff kann nur dann als schonend angesehen werden, wenn der Prozeß der Reinigung wenig Zeit in Anspruch nimmt, unphysiologische Temperatursteigerungen ausgeschlossen bleiben, eine hinreichende Sterilität gesichert ist und erhebliche Verschiebungen des p_H ³ vermieden werden können. Gerade der Verwirklichung der letzten Fundamentalbedingung stellten sich bisher nahezu unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen.

In all denjenigen Fällen, wo man natives, d.h. unverdünntes Serum fraktionieren muß und der Zusatz blutfremder Substanzen unerwünscht ist, ist die Elektrodialyse daher allein das gegebene Verfahren. Man zögerte aber mit ihrer Anwendung wegen des obengenannten Mangels.

Schon früher hatte man erkannt, daß die Reaktion des Serums in der Mittelzelle einer Elektrodialyseapparatur weitgehend von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der anodischen Membran abhängt⁴. Einige Vorstudien hatten gezeigt, daß durch stark positiv aufgeladene Diaphragmen gefährliche Ionenstauungen bzw. zu tief gehende Reaktionsverschiebungen⁵ vermieden werden konnten. In diesem Zusammenhang bediente man sich u.a. auch mit Proteinkörpern imprägnierter Kollodiummembranen⁶.

Aus verschiedenen, vornehmlich versuchstechnischen Gründen kann man die bisher auf diesem Gebiete vorliegenden spärlichen Untersuchungen bestenfalls als vorläufige bezeichnen.

Die bisher empfohlenen zwei Verfahren zur Membranherstellung⁷ wurden eingehend geprüft und neue Wege zu ihrer Vervollkommenung eingeschlagen. Bei diesen Verfahren wird entweder flüssiges Kollodium mit pulverförmigen Trockenpräparaten aus verschiedenen Serum eiweißkörpern geschüttelt und aus derartigen Suspensionen durch Ausgießen Membranen hergestellt. Im anderen Falle wird das Eiweiß direkt auf die Oberfläche des Diaphragmas gebracht.

Auf bekannte Weise stellten wir aus Rinderserum, vorerst durch reine Elektrodialyse bzw. durch eine Kombination mit Aussalzverfahren durch Ammoniumsulfat, die drei Eiweißfraktionen her, die man mit Pseudoglobulin, Euglobulin bzw. mit Albumin, zu bezeichnen pflegt. Aus den Lösungen, bzw. den salzfreien Niederschlägen, wurden durch Vakuumbehandlung bei niedriger Temperatur und Aussieben Trockenpulver hergestellt. Gearbeitet wurde mit einer schwächeren 2%igen bzw. mit einer 5%igen Kollodiumsuspension, bei variierter Dicke der Diaphragmen. Darüber hinaus wurden auch Pulverpräparate aus unverändertem, genuinem Blutserum verwandt. Mit derartigen Membranen elek-

¹ E. J. COHN und Mitarbeiter, J. Am. chem. Soc. 68, 459 (1946).

² W. O. PAULI, Helv. chim. Acta 25, 137 (1942). — J. DHÉRÉ, ebenda 27, 1079 (1944).

³ K. O. PEDERSEN, Ultra-centrifugal Studies on Serum and Serum Fractions, Upsala 1945, p. 140.

⁴ H. FREUNDLICH und F. LOEB, Biochem. Z. 150, 522 (1924).

⁵ W. BECK, Biochem. Z. 156, 471 (1925); derselbe, erscheint demnächst in: Ned. Tijdschr. v. Geneeskunde. — G. ETTISCH und W. BECK, Biochem. Z. 171, 443; 172, 1 (1926); dieselben, in: Dtsch. med. Wschr. Nr. 47 (1925). Patente der Elektro-Osmose AG., Berlin.

⁶ D. G. HITCHCOCK, J. gen. Physiol. 8, 61 (1928).

⁷ G. ETTISCH und W. Ewig, Biochem. Z. 216, 401 (1929).