

possesses nerve fibres, the endings of which respond specifically to water.

When a few ml of water are poured on the tongue there is a rapid response which takes about five minutes to subside. The response can be dramatically abolished by washing the tongue with Ringer's solution or by isotonic KCl solution. The latter solution exerts on inhibitory action on these endings. These results have been published in *Acta physiol. Scand.*, 1949<sup>1</sup>.

Recently B. ANDERSSON and I have succeeded in isolating single fibres responding specifically (1) to water, (2) to touch, (3) to acids. Acid solutions excite endings belonging to thinner fibres.

Using different strength of hypotonic NaCl solutions we found that the threshold for the water taste fibres was equal to or less than 0.05%.

In my paper of 1949 I suggested that the water taste fibres might subserve an important physiological mechanism in the frog. It is likely that these fibres contribute to a reflex closure of the frog's mouth when the animal is immersed in fresh water thereby preventing unnecessary intake of water and thus avoiding aspiration of water.

The amphibians living in fresh water have to regulate their water intake carefully in order to maintain an adequate mineral balance.

A further account (B. ANDERSSON and Y. ZOTTERMAN) of these phenomena will appear early next year in *Acta physiol. Scand.*

YNGVE ZOTTERMAN

Department of Physiology, Kungl. Veterinärhögskolan Stockholm, December 1, 1949.

#### Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß die Zunge der Amphibien besondere Endorgane besitzt, die spezifisch auf reines Wasser oder verdünnte NaCl-Lösungen von einer Konzentration unter 0,05% reagieren. Diese Rezeptoren sind mit ziemlich groben Nervenfasern im N. glossopharyngeus verbunden. Die Entladungen dieser Fasern können sehr leicht von denen unterschieden werden, die durch Säuren oder Schmerz entstehen. Diese Reize werden durch Fasern von kleinerem Durchmesser übertragen.

Isolierte Fasern, die auf hypertonische NaCl-Lösungen ansprechen, reagieren nicht auf reines Wasser. Es wird vermutet, daß dieser Wassergeschmack im Dienst des Elektrolythaushaltes des Frosches steht.

<sup>1</sup> Y. ZOTTERMAN, *Acta physiol. Scand.* 18, 181 (1949).

### A New Crystallographic Modification of Chitin and its Distribution

X-ray photographs of the notopodial chaetae of the polychaete *Aphrodite aculeata* taken in 1938 revealed a chitin (polyacetylglucosamine) picture almost as well developed as that obtained by MEYER and PANKOW<sup>1</sup> from an apodeme of *Palinurus vulgaris*. The chaetae are non-cellular bristles, c.  $15 \times 0.25$  mm, secreted in pits in the epidermis; they are dark brown to black in colour and of considerable stiffness. Extraction with hot 10% potash, or with diaphanol, results in a loss in weight of about 65% and leaves the bristles as glass-clear rods, flexible when wet, showing brilliant interference colours. The X-ray photographs from untreated bristles include meridional reflections that do not belong to the picture

of *Palinurus* and that disappear on treatment with dilute potash or diaphanol<sup>1</sup>. This note is concerned only with potash- or diaphanol-extracted material. Photographs were taken with a fine collimator ( $0.25 \times 60$  mm), exposing for 72 hours and more. Whereas other workers have reported identity between the X-ray photograph of *Aphrodite* bristles and that of crustacean chitin<sup>2</sup>, our photographs showed considerable differences. The fibre-axis was found to be  $10.17 \text{ \AA}$ , and the two strongest reflections on the equator yielded d-values of  $9.32 \text{ \AA}$  and  $22.15 \text{ \AA}$ , as compared with *Palinurus*:  $a = 9.40 \text{ \AA}$ ;  $b = 10.46 \text{ \AA}$ ;  $c = 19.25 \text{ \AA}$ . Our photographs of *Palinurus* gave  $b = 10.27 \text{ \AA}$  (determined from the 020 reflection), at variance with MEYER and PANKOW's interpolated value of  $10.46 \text{ \AA}$ . The 020 reflection in their photograph gives  $b = 10.26 \text{ \AA}$ , however. Our photographs also indicate a displacement of the meridional reflection on the third layer line from a position corresponding to a d-value of  $3.41 \text{ \AA}$  to one of  $3.26 \text{ \AA}$ ; moreover the intensity ratio of the meridional reflections on the second and third layer lines is reversed in the *Aphrodite* photograph as compared with *Palinurus*. It is proposed to refer to the new modification as  $\beta$ -chitin in contrast to the  $\alpha$ -chitin of *Palinurus*.

MEYER and PANKOW's model of *Palinurus*-chitin envisaged an orthorhombic unit cell. If there were 4 chitobiose residues in  $\beta$  as in  $\alpha$  (the unit cell remaining orthorhombic), a 15% increase in the  $c$ -axis (nearly  $3 \text{ \AA}$ ) would mean a change in density from  $1.415^3$  to  $1.24$  (calculated). Determinations of the density of treated bristles in mixtures of tetrachloro-ethane and butylic alcohol showed, however, that this is only slightly less than that of *Palinurus*. In the same media, fragments of *Limulus* carapace extracted with dilute KOH and known to give an  $\alpha$ -chitin picture (see below) exhibited a density between  $1.40$  and  $1.42$ . The bristles showed some scatter (observed by SOLLAS<sup>4</sup> in other chitin samples), but the bulk of the population behaved as if the density lay between  $1.40$  and  $1.41$ . These observations suggest that the  $\beta$ -form cannot be derived from  $\alpha$  simply by dilatation of the  $c$ -axis.

That  $\alpha$  and  $\beta$  are closely related is suggested by the apparent conversion of  $\beta$  to  $\alpha$  on treatment with 45% fuming nitric acid. Preliminary experiments showed that extracted bristles swelled markedly, shortened to about one third of their initial length, and dissolved completely after 15 minutes in 45% fuming nitric acid—as does *Palinurus* chitin<sup>5</sup>. Untreated bristles in 45% fuming nitric acid undergo little dimensional change in 15 minutes, however; at the end of this period they are translucent, though still brown in colour. After washing and drying, they yield an  $\alpha$ -photograph; the orientation is not so good as in the untreated bristle. Further work is necessary before this transformation is accepted as proven, but the observation suggests that  $\alpha$  and  $\beta$  are indeed closely related.

X-ray photographs of well-oriented chitinous material from the main-groups of the Arthropoda have shown in each case that the polysaccharide present is the  $\alpha$ -modification. In addition to fibres from the apodemes of *Palinurus* (Crustacea) and the trabeculae running between upper and lower surfaces of the carapace of *Limulus* (Arachnida), apodemes of the wing-muscles of *Aeschna* and the inner blades of the ovipositor of *Sirex*

<sup>1</sup> L. E. R. PICKEN and W. LOTMAR, in press (1949).

<sup>2</sup> G. BOBIN and H. MAZOUÉ, *Bull. Soc. zool. Fr.* 69, 125 (1946).

<sup>3</sup> K. H. MEYER and G. W. PANKOW, l. c.

<sup>4</sup> I. J. B. SOLLAS, *Proc. Roy. Soc. B* 79, 474 (1907).

<sup>5</sup> K. H. MEYER and H. WEHRLI, *Helv. chim. acta* 20, 353 (1937).

<sup>1</sup> K. H. MEYER and G. W. PANKOW, *Helv. chim. acta* 18, 589 (1935).

*gigas* (Insecta) have been examined, both untreated and after extraction.

The cuticle of *Peripatus* (Onychophora) gave a powder-diagram with rings of remarkable sharpness. It appears to be  $\alpha$ -chitin. With respect to 031, 002 is in precisely the position it occupies in the  $\alpha$ -form, and there is present a reflection that occurs on the equator of  $\alpha$  but is absent in  $\beta$ . Powder-photographs of  $\beta$ -chitin for comparison with this photograph have not as yet been taken.

Among the various chitinous structures present in the Mollusca, only the pen of *Loligo* has as yet been examined. Well-oriented samples from the rachis of the pen gave unmistakable  $\beta$ -photographs, though MEYER and WIEBENGA<sup>1</sup> had previously reported identity of the diagram given by the pen with that of *Palinurus*, save for poorer orientation.

While the crystallographic study of the various forms of chitin in the Animal Kingdom is of interest for its own sake, it may also prove of interest in relation to affinities between the different phyla—as this preliminary examination suggests. The plant-chitins hitherto examined<sup>2,3</sup> appear to be of the  $\alpha$ -type, but Dr. K. M. RUDALL informs us that he has obtained photographs somewhat similar to ours from mushroom-stalk chitin.

W. LOTMAR and L. E. R. PICKEN

Aarau, Switzerland, and Zoological Laboratory, Cambridge, England, December 1, 1949.

### Zusammenfassung

Die chitinösen Borsten des marinen Wurms *Aphrodite aculeata* ergeben nach Reinigung mit KOH ein Röntgenfaserdiagramm, welches sich von dem an *Palinurus*sehne erhaltenen unterscheidet. Der innerste Äquatorreflex entspricht einem Netzebenenabstand von 22,15 Å gegen 19,25 Å bei *Palinurus*, der Meridianreflex auf der 3. Schichtlinie hat  $d = 3,26$  Å gegen 3,41 Å, und das Intensitätsverhältnis der Meridianreflexe der 2. und 3. Schichtlinie ist gegenüber *Palinurus* umgekehrt. Für die neue Modifikation wird die Bezeichnung  $\beta$ -Chitin vorgeschlagen (gegen  $\alpha$ -Chitin bei *Palinurus*). Die Dichte der beiden Modifikationen ist nahezu dieselbe. Vertreter der Hauptgruppen der Arthropoden zeigen sämtlich  $\alpha$ -Chitin, ebenso *Peripatus*.  $\beta$ -Chitin wurde noch bei der inneren Schale von *Loligo* gefunden.

<sup>1</sup> K. H. MEYER and E. H. WIEBENGA, see K. H. MEYER, *Natural and Synthetic High Polymers* (New York, 1946).

<sup>2</sup> G. VAN ITTERSON, JR., K. H. MEYER, and W. LOTMAR, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* 56, 61 (1936).

<sup>3</sup> A. N. J. HEYN, *Protoplasm* 25, 372 (1936).

### Über das Vorkommen von Desoxyribonuclease und Kathepsin in Zellkernen aus Nieren

Seit einiger Zeit beschäftigen wir uns mit der Darstellung von in biochemischer Hinsicht möglichst unveränderten Zellkernen, um Stoffwechselprobleme an ihnen zu studieren. Über das von uns entwickelte neuartige Darstellungsverfahren für Zellkerne wird in Kürze in der Biochemischen Zeitschrift ausführlich berichtet werden.

Bei den Untersuchungen über die Depolymerase der Desoxyribonucleotide haben wir Schweine- und Kalbsnieren benutzt, aus denen sich die Kerne leicht besonders rein gewinnen lassen. Als Substrat dient hochpoly-

mere Thymonucleinsäure nach HAMMARSTEN<sup>1</sup>. Die Messung der Fermentaktivität erfolgt in Ostwald-Viskosimetern bei optimalem  $p_{H_1}$  (Acetatpuffer). Unsere Versuche haben gezeigt, daß das Ferment ganz überwiegend in den Zellkernen vorkommt.

Tabelle I

Abnahme der relativen Viskosität während 45 Minuten, berechnet je mg N der untersuchten Fraktionen.

|       |      |
|-------|------|
| $K_1$ | 0,83 |
| $K_2$ | 1,2  |
| $U_2$ | 0,13 |

$K_1$  bei 600 g sedimentierbare Kerne

$K_2$  bei 2000 g sedimentierbare Kerne

$U_2$  überstehende Flüssigkeit von  $K_2$ , kernfrei

Das Ergebnis ist davon abhängig, daß die gesamte Darstellung der Kerne unter Bedingungen erfolgt, die nach unseren Erfahrungen eine irgendwie geartete Extraktion von Kernmaterial ausschließen, und die eine Zertrümmerung einzelner Kerne verhindern. Die in den anderen Zellfraktionen als den Kernen zu findenden geringen Fermentaktivitäten schwanken und scheinen in ihrer Größe von den eben genannten Bedingungen abhängig.

Die Untersuchung der katheptischen Aktivität haben wir an Zellkernen aus Schweinenieren durchgeführt. Der Ansatz folgt dem Vorgehen von ANSON<sup>2</sup> unter Bestimmung von Tyrosin und Tryptophan mit dem Phenolreagens von FOLIN und CIOCALTEU<sup>3</sup>. Die Zellkerne zeigen hierbei eine sehr erhebliche Aktivität, während die kernfreie überstehende Flüssigkeit ebenfalls hochaktiv ist. Versuche zur näheren Klassifizierung des Kathepsins sind im Gange.

Tabelle II

Zuwachs an Tyrosin und Tryptophan nach 90 Minuten in  $\gamma$ , berechnet je mg N der untersuchten Fraktionen

|       |    |
|-------|----|
| $K_1$ | 24 |
| $K_2$ | 26 |
| $U_1$ | 18 |
| $U_2$ | 17 |

$K_1$  bei 600 g sedimentierbare Kerne

$U_1$  überstehende Flüssigkeit von  $K_1$

$K_2$  bei 2000 g sedimentierbare Kerne

$U_2$  überstehende Flüssigkeit von  $K_2$ , kernfrei

Da nach MAVER und GRECO<sup>4</sup> Kathepsin Nucleoproteide in Nucleotide und Histon zu spalten vermag, möchten wir dem von uns erstmals aufgefundenen Vorkommen von Kathepsin in Zellkernen eine erhebliche funktionelle Bedeutung beimessen. (Die Frage der Nucleotid-Eiweißbindung wird von uns z. Z. auch in anderer Hinsicht geprüft.) Aus den Versuchen mit Desoxyribonuclease glauben wir schließen zu können, daß der Zellkern hinsichtlich der Depolymerisierung seiner Desoxyribonucleotide durchaus unabhängig vom Zytoplasma ist. – Weitere Untersuchungen, die der Klärung der Frage nach der Stellung des Zellkerns im Stoff-

<sup>1</sup> E. HAMMARSTEN, *Biochem. Z.* 144, 383 (1924).

<sup>2</sup> M. L. ANSON, *J. gen. Physiol.* 20, 565 (1936); 22, 79 (1939).

<sup>3</sup> O. FOLIN und V. CIOCALTEU, *J. biol. Chem.* 73, 627 (1927).

<sup>4</sup> M. E. MAVER und A. GRECO, *Fed. Proc.* 7, 171 (1948).