

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 α -chitin. With respect to 031, 002 is in precisely the position it occupies in the α -form, and there is present a reflection that occurs on the equator of α but is absent in β . Powder-photographs of β -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 β -photographs, though MEYER and WIEBENGA¹ 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^{2,3} appear to be of the α -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 β -Chitin vorgeschlagen (gegen α -Chitin bei *Palinurus*). Die Dichte der beiden Modifikationen ist nahezu dieselbe. Vertreter der Hauptgruppen der Arthropoden zeigen sämtlich α -Chitin, ebenso *Peripatus*. β -Chitin wurde noch bei der inneren Schale von *Loligo* gefunden.

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

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

³ 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 HAMMARSTEN¹. 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 ANSON² unter Bestimmung von Tyrosin und Tryptophan mit dem Phenolreagens von FOLIN und CIOCALTEU³. 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 γ , 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 GRECO⁴ 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-

¹ E. HAMMARSTEN, *Biochem. Z.* 144, 383 (1924).

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

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

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

wechsel dienen sollen – ob selbständig, teilweise, oder ganz abhängig –, werden zur Zeit durchgeführt.

Herrn H. LANG danken wir für die Hilfe bei der Darstellung der Zellkerne.

K. LANG, G. SIEBERT, I. BALDUS und A. CORBET

Physiologisch-chemisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, den 23. November 1949.

Summary

The authors prepare cell nuclei by a newly developed procedure. Isolated cell nuclei from hog and calf kidney contain almost the whole activity of desoxyribonuclease (depolymerase) of these tissues. – The catheptic activity of isolated cell nuclei from hog kidney is a very considerable one. The importance of these findings is briefly discussed.

Vitesse de renouvellement et localisation de l'acide ribonucléique

L'un de nous a signalé récemment que la vitesse avec laquelle des groupes phosphate marqués par le P^{32} s'intègrent dans les molécules d'acide ribonucléique (RNA) cytoplasmique d'embryons de souris, était fort différente suivant la fraction nucléoprotéique considérée¹. La valeur de données de ce genre dépend presque exclusivement du soin apporté dans l'isolement des ribonucléotides du RNA². Depuis la publication de nos premiers résultats nous avons amélioré notre technique en soumettant les ribonucléotides, incomplètement purifiés par la technique de SPIEGELMAN et coll.³, à une séparation chromatographique sur papier, le solvant employé étant du phénol saturé d'eau. Grâce à cette manipulation supplémentaire nous arrivons, notamment, à séparer les ribonucléotides de toute trace de Pinorganique à haute radioactivité spécifique (orthophosphate, métaphosphate ou pyrophosphate). La principale cause susceptible de fausser nos résultats se trouve ainsi éliminée aisément. C'est de cette manière qu'à été entreprise l'étude des relations existant entre la vitesse de renouvellement des groupes phosphate de l'acide ribonucléique du foie de rat adulte et la localisation intracellulaire de ce corps.

Deux heures après injection sous-cutanée de phosphate marqué par le P^{32} , les noyaux d'une partie du foie sont isolés par la méthode de STONEBURG⁴. Le reste de l'organe est homogénéisé mécaniquement dans du tampon phosphate de pH 7,3. Les noyaux présents dans la suspension sont éliminés par une centrifugation brève à basse vitesse (2000 à 3000 r par min.). L'extrait cytoplasmique est fractionné au cours d'une série de centrifugations de vitesses croissantes, les culots de particules successivement obtenus et le liquide surnageant final étant recueillis séparément.

Le RNA des noyaux présente une radioactivité spécifique (coups p. min. et par unité de poids de P) 5 fois plus élevée que le RNA cytoplasmique resté en solution après une centrifugation de 60 min. à $6,10^4$ g. Quant au RNA des particules cytoplasmiques se sédimentant aisément, sa radioactivité spécifique décroît en même temps qu'augmente la vitesse de sédimentation des particules, et cela dans des proportions telles que la fraction cytoplasmique la moins radioactive présente une radioactivité spécifique égale au $1/350$ de celle du RNA nucléaire.

L'utilisation de la méthode chromatographique de séparation des ribonucléotides du RNA confirme ainsi, sur un nouveau matériel d'étude, nos conclusions antérieures: les radioactivités spécifiques des diverses fractions du RNA cytoplasmique isolées à partir d'extraits de tissus étant différentes, nous sommes obligés d'admettre que ces fractions existaient déjà dans la cellule normale; le RNA des particules trouvées dans les extraits ne peut donc s'être fixé sur elles lors de la dispersion du cytoplasme, par suite de modifications de pH ou de force ionique survenues à ce moment¹.

Le fait que le RNA des noyaux présente une radioactivité spécifique supérieure à celle du RNA cytoplasmique est en accord avec les résultats de BARNUM, HUSEBY² et MARSHAK³ récemment publiés.

Ignorant presque tout des réactions auxquelles participe le RNA au sein de la cellule il nous est évidemment difficile d'interpréter les faits décrits. Signalons toutefois que la décroissance de la radioactivité spécifique du RNA des diverses fractions dans l'ordre indiqué ci-dessus s'expliquerait fort bien si nous admettions que le RNA est synthétisé dans le noyau et passe ensuite dans le cytoplasme, où il apparaît initialement sous la forme d'un ribonucléoprotéide de petites dimensions, servant lui-même de point de départ à l'édification de particules plus grosses et plus complexes suivant l'hypothèse de BRACHET et CHANTRENNE⁴. Pareille interprétation n'a évidemment de valeur que si le P^{32} trouvé dans le RNA s'y est introduit, au moins pour la plus grande partie, au cours de la synthèse de molécules nouvelles, et non par le simple jeu de chaînes de réactions réversibles⁵.

La méthode chromatographique de purification des nucléotides a été également appliquée à la comparaison des radioactivités spécifiques de diverses fractions du RNA des cellules d'un flagellé, *Polytomella coeca*⁶, en croissance active. Ces cellules ont été traitées comme nous l'avons indiqué ci-dessus pour le tissu hépatique du rat, deux heures après adjonction au milieu de culture de phosphate marqué par du P^{32} . La répartition de la radioactivité spécifique dans les diverses fractions du RNA de *Polytomella* est semblable à celle réalisée dans le cas du foie de rat adulte, à cette différence près que les particules à grande vitesse de sédimentation présentent une radioactivité spécifique plus élevée que les particules à vitesse de sédimentation moyenne. Nous pourrions nous demander si cette particularité n'est pas caractéristique des cellules en multiplication active car nous l'avons signalée antérieurement chez les embryons de souris.

Tenter de donner une interprétation de la différence qui existerait ainsi entre cellules au repos et cellules en multiplication paraît impossible avant que de nombreuses données complémentaires n'aient été recueillies sur le comportement des acides nucléiques au cours de la division.

R. JEENER et D. SZAFARZ

Laboratoire de physiologie animale, Université de Bruxelles, le 9 octobre 1949.

Summary

The turnover rate of the phosphate groups of ribonucleic acid varies a great deal with its localization inside the cell. Differences seem to exist between resting and dividing cells.

An interpretation of the part of these facts has been proposed.

¹ A. KLECZOWSKI, Biochem. J. 40, 677 (1946).

² M. LAUFFER, J. Biol. Chem. 174, 481 (1948). – G. BARNUM et R. HUSEBY, Fed. Proc. 8, 183 (1949).

³ A. MARSHAK, J. Cell. Comp. Physiol. 32, 381 (1948).

⁴ J. BRACHET et H. CHANTRENNE, Acta biol. Belg. 2, 451 (1942). – H. CHANTRENNE, Biochem. et biophys. acta 1, 437 (1947).

⁵ H. CHANTRENNE, travail non publié.

⁶ Nous devons une souche de ce flagellé et toutes les indications nécessaires pour la réussite de sa culture à M. A. LWOFF, que nous remercions de sa grande amabilité.

¹ R. JEENER, Nature 163, 837 (1949).

² R. JEENER, Bull. Soc. Chim. Biol., sous presse.

³ E. JUNI, M. KAMEN, M. REINER et S. SPIEGELMAN, Arch. Biochem. 18, 387 (1948).

⁴ C. STONEBURG, J. Biol. Chem. 129, 189 (1939).