

Heats of Neutralization of Fructose-1,-6,-diphosphate

The heats of neutralization of fructose-1,-6,-diphosphate were determined in two experiments. The apparatus was a simple "students assembly" consisting of a $\frac{1}{2}$ liter Dewar flask and BECKMANN thermometer. The sodium hydroxyde solution was admitted suddenly into the fructose diphosphate solution in the Dewar flask. The temperature trends were noted before and after neutralization and extrapolated in the usual manner. Control determinations on phosphoric acid were all within 4% of the data in LANDOLT-BÖRNSTEIN. The results on fructose diphosphate were 14.7 resp. 14.9 Cal/Mole for the primary and 14.0 resp. 13.5 Cal/Mole for the secondary hydrogen ions. The free acid was prepared from freshly purified Ba-salt by reaction with the calculated amount of sulfuric acid. The solution was roughly 0.02 molar and it was neutralized with sodium hydroxide.

The experiments were originally designed to compare the heats of neutralization with the corresponding ones of phosphoric acid: 14.8 Cal/Mole for the primary and 12.2 Cal/Mole for the secondary hydrogen ion. It was thought possible that electrostatic repulsion between the two ionized phosphoric acid groups on the same molecule might cause an appreciable decrease in heat of neutralization, but actually a slight but significant increase was observed for the secondary hydrogen ions. Irrespective of speculations, however, the approximate determination of these heats of neutralization may be interesting enough to warrant their publication.

F. KÖRÖSY

Délíbab út. 28, Budapest, August 2, 1954.

Zusammenfassung

Es wurde geprüft, ob die Neutralisationswärmen der beiden ionisierten Phosphatgruppen von Fructose-diphosphat durch deren elektrostatische Wechselwirkung beeinflusst werden. Dabei ergab sich für die primären H⁺-ionen kein Unterschied gegenüber Phosphorsäure, für die sekundären H⁺-ionen dagegen eine geringe Erhöhung der Neutralisationswärme.

Les transformations des nucléoides de *Escherichia coli* déclenchées par les rayons X

Nous avons décrit précédemment les transformations subies par la cellule bactérienne, en particulier par son appareil nucléaire (nucléoides) après irradiation ultraviolette¹: Les cellules s'allongent, les nucléoides deviennent polychromosomiques et ensuite fragmentés; 30 min déjà après l'irradiation, toutes les cellules présentent, d'une façon très homogène, des nucléoides fragmentés. La différence entre les bactéries survivantes et les mortes ne devient visible que 60 à 90 min (selon la dose d'UV.) après l'irradiation. Des doses d'UV. très faibles, tuant moins de 10% de la population, ont toujours cette même action sur les nucléoides pendant les

20 min qui suivent l'irradiation: les cellules s'allongent et le noyau est polychromosomique. Les fortes doses (survie de moins d'1%) retardent ou empêchent la transformation caractéristique; les nucléoides sont alors simplement mal définis («diffus»).

Nous nous sommes proposé d'étudier l'action des rayons X sur les nucléoides bactériens pour savoir si ce rayonnement ionisant provoque les mêmes transformations que les UV. qui ne peuvent qu'exciter les molécules. Il était intéressant en particulier de comparer l'action des deux rayonnements sur les cellules lysogènes, car les rayons X n'induisent la production de phages que sur 50% au plus des cellules lysogènes (LATARJET¹), alors que les rayons UV. induisent plus de 99% de la population (WEIGLE et DELBRÜCK²).

Les nucléoides ont été observés au microscope électronique selon la méthode décrite ailleurs³. Les souches *E. coli* B non lysogène, K12 (λ), lysogène pour le phage λ , et K12 S non lysogène et sensible au phage λ , ont été étudiées. Les bactéries sont cultivées à 37°C jusqu'à une densité de 3 à 5,10⁸ cellules par millilitre; après avoir été centrifugées, elles sont resuspendues dans du milieu frais à 4°C et exposées aux rayons X d'une longueur d'onde moyenne de 0,9 Å (Anticathode Molybdène, 33 kV, filtre Al). Elles sont ensuite diluées dans du milieu frais à 37°C et cultivées. Le graphique montre les courbes de survie en fonction de la dose de rayons X en röntgen (r) pour les trois souches. Nous y avons indiqué, en pointillé, le pourcentage de cellules K12 (λ) induites, c.-à-d. productrices de bactériophages.

Les résultats de l'examen morphologique sont les suivants:

- a) les trois souches se comportent – grossièrement – de façon identique;
- b) les nucléoides polychromosomiques respectivement fragmentés se retrouvent toujours sur une partie au moins de la population;
- c) deux nouvelles transformations apparaissent pour les doses relativement fortes, transformations qui sont spécifiques pour les rayons X.

Doses faibles: 800–2500 r, survie 90% à 100%. La figure 1 montre les nucléoides de *E. coli* B a) en croissance normale, b) 30 min après irradiation aux rayons X avec 800 r. On voit que cette faible dose a suffi pour provoquer une transformation vers la polychromosomie dans la plupart des cellules.

La figure 2 montre des cellules 60 min après une irradiation avec 2500 r. On voit un allongement et une polychromosomie très marquée aussi bien sur K12 S (fig. 2a) que sur B (fig. 2b). Si l'on continue à cultiver, les nucléoides se regroupent et les cellules allongées se divisent en cellules à appareil nucléaire normal.

Doses moyennes: 2–4,10⁴ r, survie entre 10 et 1%. La figure 3 montre l'évolution de K12 (λ) après une irradiation de 2,10⁴ r. 15 min après l'irradiation (fig. 3a), nous trouvons des cellules polychromosomiques et des cellules aux nucléoides fragmentés, mais aussi d'autres dans lesquelles les fragments sont très rapprochés et forment une vésicule centrale (ou polaire, dans le cas d'une division amorçée). 30 min après l'irradiation, la fragmentation du noyau est particulièrement bien visible dans les cellules allongées qui se différencient nettement des cellules plus courtes à noyau vésiculaire (fig. 3b). 60 min après l'irradiation,

¹ R. LATARJET, Ann. Inst. Pasteur 81, 389 (1952); communications personnelles.

² J. WEIGLE et M. DELBRÜCK, J. Bact. 62, 301 (1951).

³ E. KELLENBERGER, Exper. 8, 99 (1952); Symposium on bacterial Cytology, Rome 1953, 45.