

The second explanation would be that DNA and DNAP probably play an important role in the antigenicity of spleen cells nuclei. Although the evidence regarding the antigenicity of DNA and DNAP is not altogether complete, it can be assumed on the basis of present experiments that DNA and DNAP have at least hapten-like properties.

A full report will be published elsewhere.

B. D. JANKOVIČ, D. T. KANAZIR,  
D. MANČIĆ, and M. PETROVIĆ

*Department of Immunology, Microbiological Institute, Belgrade University School of Pharmacy and Department of Biochemistry, Radiobiological Laboratory, Boris Kidrič Institute for Nuclear Sciences, Belgrade, Yugoslavia, September 22, 1956.*

#### Résumé

Les études immunologiques de l'ADN et l'ADNP, extraits des cellules normales de la rate des rats, ont démontré que ces constituants cellulaires ont au moins la propriété d'haptène.

### Amino Acid Composition of Crude and Germinated Guarseed Flour Protein (*Cyamopsis Psoralioides*)

PARIKH<sup>1</sup> has carried out preliminary investigations on the chemical composition of Guarseed (*Cyamopsis Psoralioides*), a cheap legume grown in abundance in this part of the country. The crude Guar, even though it has a high protein content, is not used for human consumption on account of its bitter taste, high crude fibre content and the difficulty in removing the outer coating. The author was successful in easily removing the outer coating and reducing the fibre content by germinating the Guarseeds for two days before processing. An attempt is being made to investigate the nutritive value of the germinated guarseed flour, as a preliminary to which studies were carried out to determine the amino

acid composition of the protein of the crude and germinated guarseed flour. The results are recorded in this communication.

*Preparation of the guar flour.* The guarseeds were obtained from the local market on a large scale, soaked for 6 h in water and washed till the washings were clear (initial washings usually contained a lot of mud and the washings were of a red colour). One portion was dried in the sun, ground in a mill and sieved through a sixty mesh sieve. The other portion was mixed with mud, and sufficient water to keep them wet was added, after which it was allowed to germinate for 48 h. After the period of germination, the seeds were dried in the sun. All the mud was removed by rubbing in a sieve and most of the skin also came away with the mud. They were again washed, dried, ground in a mill and sieved.

*Analytical methods.* For the determination of the free amino acid contents of the flour, one gram of flour was taken in 50 ml of water, homogenised for ½ h with a glass homogeniser at room temperature and centrifuged. The supernatant was used for the determinations.

For determining the total amino acids, 0.1 g of the flour was refluxed with 10 ml of 6*N* HCl for 22 h on a sand bath, the excess hydrochloric acid was evaporated under reduced pressure, the residue was mixed with water, neutralised to 6.6 pH and again evaporated and the residue thus obtained was taken in 1 ml of 10% isopropanol and used for chromatography. For the determination of amino acids, the method used was the circular chromatographic method of RAO and WADHWANI<sup>2</sup> except that the chromatograms were run thrice.

The Table shows the free and total amino acid composition of crude and germinated Guar flour. It is found that in the case of the germinated Guar flour, it contains a high percentage of amino acids which gives an indication that it may be a good quality protein. Further work is in progress to study the biological value of the germinated guar flour protein.

C. V. RAMAKRISHNAN

*Department of Biochemistry, Baroda University, India, October 8, 1956.*

<sup>1</sup> J. M. PARIKH, M. Sc. Thesis, M. S. University of Baroda, India (1954).

<sup>2</sup> N. A. N. RAO and T. K. WADHWANI, J. Ind. Inst. Science 37, 2 (1955).

Amino acid composition of Guar Flour\* (Calculated to 16 g of Nitrogen)

	Free amino acid of		Amino acid composition of the hydrolysate of	
	Crude Guar	48 h Germinated Guar	Crude Guar	48 h Germinated Guar
Cystine . . . . .	—	0.8	0.27	1.20
Lysine . . . . .	9.1	12.3	10.30	11.80
Histidine . . . . .	0.1	0.14	0.30	2.40
Arginine . . . . .	1.2	2.40	2.05	3.00
Aspartic acid . . . . .	—	12.20	10.20	14.80
Serine . . . . .	—	1.80	0.50	1.56
Glycine . . . . .	0.07	1.23	1.25	2.50
Glutamic acid . . . . .	15.20	24.20	18.57	22.45
Threonine . . . . .	—	1.90	0.30	2.10
Alanine . . . . .	0.12	1.20	0.23	1.34
Tryptophane . . . . .	0.10	0.70	0.31	0.78
Tyrosine . . . . .	0.50	1.20	0.70	1.78
Valine . . . . .	5.30	7.50	6.10	8.30
Methionine . . . . .	3.10	5.60	4.20	5.80
Phenylalanine . . . . .	—	0.30	1.04	1.22
Leucine . . . . .	8.20	13.20	16.10	12.50
Isoleucine . . . . .	2.10	10.80	4.20	10.10

\* Nitrogen content of crude Guar flour: 5.6%.

Nitrogen content of germinated Guar flour: 6.6%.

### Zusammenfassung

Untersuchungen über die Aminosäurezusammensetzung des Mehles von ungekeimten und gekeimten Guarsamen (*Cyamopsis Psoralioides*), die ein billiges, hochproteinhaltiges Nahrungsmittel darstellen, haben ergeben, dass die Aminosäurekombination im gekeimten Samen einer guten Proteinqualität entspricht. Die Prüfungen über den biologischen Wert dieses Mehles sind im Gange.

### Eiweissvermehrung in ein- und zweikernigen Systemen von *Acetabularia*

Gegenwart und Wirksamkeit mehrerer Kerne in einem System bewirken keine Erhöhung der Wachstumsrate des Stieles<sup>1</sup>. Aus diesem Ergebnis bei *Acetabularia* wurde geschlossen, dass auch keine vermehrte Synthese von Eiweisskörpern in den mehrkernigen Systemen erfolgt, da unter den angewandten Bedingungen gleiche Wachstumsgeschwindigkeit als Mass für gleiche Eiweisszunahme genommen werden kann<sup>2</sup>. In den im folgenden mitgeteilten Untersuchungen wurde diese Frage durch direkte Bestimmungen an ein- und zweikernigen, artgleichen und artverschiedenen Systemen geprüft.

Die Untersuchungen erfolgten an zweikernigen, artgleichen *cren<sub>2</sub>*- und *med<sub>2</sub>*- sowie artverschiedenen *cren<sub>1</sub>*, *med<sub>1</sub>*-Transplantaten, die mit den einkernigen Systemen (*cren<sub>1</sub>* und *med<sub>1</sub>*) beider Arten verglichen wurden (*cren* = *Acetabularia crenulata*; *med* = *Acetabularia mediterranea*; Suffix 1 oder 2 = Anzahl Kerne in einem System). Die Transplantate wurden in üblicher Weise nach den Methoden von HÄMMERLING und BETH hergestellt<sup>3</sup>. Um vor der Hutbildung möglichst viel Stiel zu erhalten, wurden die an den Rhizoiden verbliebenen Stiele sehr kurz gehalten. Sie waren bei zweikernigen Systemen höchstens 2 × 2 mm lang (zusammen also höchstens 4 mm Stiel), bei einkernigen höchstens 4 mm lang. Die Teile wurden unter normalen Kulturbedingungen gehalten (Temperatur etwa 21°C; 12 h tägliche Beleuchtung; etwa 2500 Lux). Für die Bestimmungen wurden nur Systeme verwendet, die ein Regenerat ausgebildet hatten.

Der Eiweissgehalt wurde als nicht in Trichloressigsäure löslicher N bestimmt: für die Anfangswerte (Tag 0 bis Tag 14; regenerierte Stiellängen bis etwa 10 mm) kolorimetrisch nach PARNAS<sup>4</sup>, später (Tag 21 bis 36; regenerierte Stiellängen bis ungefähr 25 mm) azidimetrisch nach SOBEL, YUSKA und COHEN<sup>5</sup>. Die Bestimmungen erfolgten nur an Stielteilen von Systemen, die noch keine Hüte gebildet hatten, in mindestens drei Wiederholungen (maximal sechs) zu je 10 bis 30 Teilen.

Die Ergebnisse sind in der Abbildung zusammengefasst, wo auch die N-Ausgangswerte angegeben werden. Im folgenden sind nur die Absolutwerte der Eiweisszunahme angeführt, das heisst der absolute Zuwachs/Zeit. Die relativen Zunahmen zum Ausgangsgehalt werden

nicht aufgeführt, da der Zuwachs in weiten Grenzen nicht vom Ausgangsgehalt abhängt, was unter anderem daraus hervorgeht, dass kurze, kernlose Teile der apikalen Stielregion eine grössere Proteinzunahme zeigen als längere Teile aus der basalen, rhizoidnahen Stielregion<sup>6</sup>.

Die Zunahme der Eiweisse ist bei *cren<sub>1</sub>* und *med<sub>1</sub>* verschieden stark: *cren<sub>1</sub>* besitzt eine wesentlich höhere Syntheserate für Eiweisse als *med<sub>1</sub>*. Nach 36 Tagen Versuchsdauer entsprach die absolute Eiweisszunahme bei *cren<sub>1</sub>* + 2,9 µg N/Teil, bei *med<sub>1</sub>* + 1,3 µg N/Teil. Die erhöhte Syntheserate bei *cren* steht mit der Tatsache, dass die Stiellängen bei *cren* und *med* in gleichem Masse zunehmen, nicht in Widerspruch, da *cren* dickere Stiele als *med* besitzt. Nach BETH<sup>7</sup> verhalten sich die Durchmesser der Stiele von *cren* zu *med* ungefähr wie 2:1. Dies muss wegen des Spitzenwachstums von *Acetabularia* zu einer stärkeren Vermehrung des Proteingehaltes bei *cren* führen. Für *cren<sub>2</sub>*-Transplantate betrugen die Absolutwerte der Zunahme an Eiweiss-N nach 36 Tagen + 2,8 µg N/Teil, für *med<sub>2</sub>*-Transplantate + 1,2 µg N/Teil. Demnach entspricht die Synthese von Eiweissen pro Zeiteinheit bei den zweikernigen, artgleichen Transplantaten der Syntheserate der einkernigen Systeme.

Für die artverschiedenen, zweikernigen Transplantate ergab sich, dass die Vermehrungsrate von Eiweissen nicht intermediär, sondern sehr *cren*-ähnlich war. Ihr nicht näher bestimmter Stieldurchmesser ist grösser als bei *med*. Die absolute Zunahme an Eiweiss-N nach 36 Tagen Versuchsdauer betrug + 2,4 µg N/Teil, war also nur etwas niedriger als bei *cren<sub>1</sub>* (2,9 µg N/Teil) und *cren<sub>2</sub>* (2,8 µg N/Teil).

Die gefundenen quantitativen Unterschiede in der Syntheserate für Eiweisse zwischen *cren* und *med* zeigen, dass der Grad der Eiweissvermehrung ein artcharakteristisches Merkmal ist. Bei der Untersuchung der morphologischen Merkmale von artverschiedenen *cren-med*-Transplantaten wurde zum Teil ein stark prävalentes Verhalten von *cren* festgestellt<sup>8</sup>. Diese Prävalenz der *cren*-Wirkung gilt nach den mitgeteilten Befunden auch für die Vermehrung von Eiweissen.

Bei Verdoppelung der Kernzahl in artgleichen Systemen erfolgt, wie bereits angeführt, keine Erhöhung der Stielwuchsrate<sup>1</sup> und, wie nunmehr festgestellt wurde, auch keine Erhöhung der Syntheserate von Eiweissen gegenüber einkernigen Systemen. Aus Versuchen von WERZ<sup>9</sup> hatte sich bei zweikernigen Transplantaten jedoch eine Verkleinerung der Einzelkerne auf fast die Hälfte des Kernvolumens der einkernigen Systeme und eine Abnahme des Nukleolusvolumens auf mindestens 75% ergeben und zwar als Folge einer Verringerung der den Einzelkernen zur Verfügung stehenden, zytoplasmatischen Energiemenge. Die Tatsache, dass zweikernige Systeme nicht schneller wachsen als einkernige, zeigte bereits, dass mit der Verkleinerung der Kerne und Nukleolen eine Verringerung der Wirkungsstärken der Kerne verbunden ist: in den zweikernigen Transplantaten entspricht die Wirkungsstärke der beiden Kerne auf das Wachstum der Wirkungsstärke des einen Kernes der einkernigen Systeme. Dies gilt, wie die hier geschilderten Versuche zeigen, auch für die – indirekt (zum Beispiel <sup>12</sup>) – kernabhängige Synthese von Eiweissen im Zytoplasma.

<sup>1</sup> J. HÄMMERLING, Z. indukt. Abstamm. Vererbungsl. 81, 114 (1943). – K. BETH, Z. indukt. Abstamm. Vererbungsl. 81, 271 (1943). – H. MASCHLANKA, Biol. Zbl. 65, 167 (1946). – G. WERZ, Planta 46, 113 (1955).

<sup>2</sup> J. HÄMMERLING, Z. indukt. Abstamm. Vererbungsl. 81, 114 (1943). – G. WERZ, Planta 46, 113 (1955).

<sup>3</sup> J. HÄMMERLING, Z. indukt. Abstamm. Vererbungsl. 81, 114 (1943). – K. BETH, Z. indukt. Abstamm. Vererbungsl. 81, 271 (1943).

<sup>4</sup> J. K. PARNAS, Biochem. Z. 274, 158 (1934).

<sup>5</sup> A. E. SOBEL, H. YUSKA und J. COHEN, J. biol. Chem. 118, 443 (1937).

<sup>6</sup> J. HÄMMERLING, 8e Congr. Intern. de Botanique, Paris; Rapport (1954), im Druck; Arch. Entwickl.-Mech. 131, 1 (1934).

<sup>7</sup> K. BETH, Z. Naturforsch. 10b, 267 (1955).

<sup>8</sup> J. HÄMMERLING, Z. indukt. Abstamm. Vererbungsl. 81, 114 (1943). – H. MASCHLANKA, Biol. Zbl. 65, 167 (1946). – G. WERZ, Planta 46, 113 (1955).

<sup>9</sup> G. WERZ, Planta 46, 113 (1955).