

trend is, however, *changed in pre-metamorphosis larvae*, when the tails are still growing and as yet no signs of tissue resorption are detectable; (3) that, concomitantly with progressive *tail resorption* (metamorphosis), a spectacular *increase in catheptic activity* takes place. Hence, there is good evidence to assign a predominantly *catabolic function* to the *cathepsin system* in *tail tissue* of *Xenopus* larvae. It is not yet known which factors control catheptic activity, but preliminary results, obtained by paper chromatography of methanol extracts of tails, revealed remarkably different patterns of amino acids and peptides in growing and resorption stages. Finally, the high level of activity observed in pre-metamorphosis larvae could reflect a physiological change in the tissue. It may have some relation to the onset of 'competence'³ in the tail tissue, i.e. its reactivity to metamorphosis stimuli. This hypothesis, however, remains to be confirmed by further experiments.

This work was supported by grants from the 'Swiss National Fund'.

R. WEBER

Zoological Institute, University of Bern (Switzerland)
December 21, 1956.

Zusammenfassung

Die Bestimmung der Kathepsinaktivität an wachsenden und in Rückbildung begriffenen Schwänzen von *Xenopus*larven mittels der von DUSPIVA⁵ ausgearbeiteten Casein-Harnstoffmethode führte zur Feststellung, dass dem Kathepsinsystem eine vorwiegend proteolytische Funktion zukommt.

Anoxygene Reaktivierung der Zellvermehrung nach anoxybiotisch hervorgerufener Zytostase (Anabiose)

Aerob ausschliesslich atmende Zellen (Atmungszellen) sind ausserstande, sich ohne die Mitwirkung von Sauerstoff fortzupflanzen¹. Aerob gärende Zellen dagegen (Gärungszellen) bleiben im O₂-freien Substrat noch über eine Reihe von Passagen partiell vermehrungsfähig, verlieren aber von Generation zu Generation sukzessiv an Proliferationskraft, bis sie gänzlich zu wachsen aufhören (Anabiose)². Dass es *nicht* die Gärung ist, welche die Energie für das partielle Wachstum in der Anoxybiose liefert, geht experimentell daraus hervor, dass die anabiotischen Zellen unbeeinträchtigt weitergären³, wobei auch nicht ein Substratwechsel (Entfernung der Gärungshemmstoffe, erneute Zuführung von Akzessorien) die Zytostase aufzuheben vermag. Erst wenn dem System wieder Sauerstoff zugeleitet wird, tritt reversibel Zellvermehrung ein und später sogar, nach kontinuierlicher O₂-Einwirkung, partielle Proliferation unter anaeroben Bedingungen.

Der in der Anoxybiose diminutiv verlaufende Wachstumsprozess der Gärungszellen und die oxydative Re-

aktivierbarkeit ihrer anaeroben Proliferationsfähigkeit nach eingetretener Anabiose sind nicht anders zu erklären als durch das Vorhandensein eines anoxygenen Energiepotentials, dessen respiratorische Entstehung und Akkumulation, vom anabiotischen Zellstadium ausgehend, sich auch tatsächlich auf chromoanalytischem Wege nachweisen lässt⁴. Evidenter noch tritt – mit der Testschärfe des von uns ausgearbeiteten histochemischen M-T-Verfahrens⁵ – das anoxygene Energiepotential bei bestimmten zytoplasmatischen Reaktionen des mikrobiellen Phosphatwechsels in Erscheinung⁶.

Auf der experimentellen Suche nach dem Energie-reservestoff – der in der Anoxybiose synthetische Zellreaktionen (endergonisch) ermöglicht, im Verlaufe der Diminutionszüchtung aufgezehrt und bei darauffolgender Oxybiose erneut gebildet wird – leiteten wir die entsprechenden Isolierungsmassnahmen in der Weise ein, dass wir aus den normalen Gärungs- und Atmungszellen nach bekannter Methode⁷ Zellkochsäfte herstellten. Diese liessen wir alsdann, unter Wahrung strengster (doppelt gesicherter) anaerober Versuchsbedingungen, auf anabiotisches Zellmaterial in vermehrungsfähiger Aussaat einwirken.

In den als Beleg angeführten Fällen (Tabelle) erfolgte die Bereitung der Zellkochsäfte aus *Saccharomyces carlsbergensis* Rasse U, *Torulopsis* Stamm S und *Candida Mycoderma* (REESS). Zur Kontrolle wurden in jeder Gruppe Proben mit Malzwürze (10%ig) vorgenommen. Als Testzellen dienten gleichfalls die oben angegebenen drei Hefearten, die erstere bis zur Anabiose diminutiv gezüchtet, die beiden folgenden in desoxygenem Zustand verwendet. Sämtliche Zellkochsäfte gelangten im Verschnitt 1:1 mit 15%iger Vorderwürze zum anoxybiotischen Ansatz. Die kritischen Proliferationsprüfungen führten wir – unter galvanometrischer O₂-Spurenkontrolle nach TÖDT⁸ – in einer hermetisch abgeschlossenen Anoxybiose-Apparatur⁹ durch. Während der zwischenzeitlichen Bebrütungsstadien waren die Kultivierungskolben in gasdicht isolierten, mit Reinstickstoff beschickten Sammelbehältern abgestellt. Das entscheidende *generative* Ergebnis, um das es sich vorliegend zunächst handelt, zeichnet sich beim Vergleich der charakteristischsten Proliferationsdaten (Tabelle) zwischen den einzelnen Gruppen und innerhalb jeder Zellkategorie mit aller Deutlichkeit ab.

Wertet man in umstehender Tabelle die erste Gruppe (*Sacch. carlsbergensis* Rasse U) zunächst für sich allein aus, so leitet sich – auf Grund der experimentellen Endvermehrungszahlen – der Nachweis daraus ab, dass im Zellkochsaft der Gärungs- und Atmungszellen ein thermostabiler Reserveenergiestoff enthalten ist, der unter anoxygenen Bedingungen die Zellvermehrung nach eingetretener Anabiose zu reaktivieren oder, biodynamisch ausgedrückt, die respiratorische Funktion der ergonischen Reaktionskoppelung zu substituieren vermag. Im

⁴ F. WINDISCH, W. NORDHEIM und W. HEUMANN, Z. physiol. Chem. 303, 153 (1956).

⁵ F. WINDISCH und D. STIERAND, sowie H. HAEHN, Protoplasma 42, 346 (1953).

⁶ F. WINDISCH, W. HEUMANN und W. NORDHEIM, Naturwissenschaften 42, 649 (1955). – F. WINDISCH und W. NORDHEIM, Biol. Zbl. 1956 (im Druck).

⁷ H. HAEHN, Biochemie der Gärungen (De Gruyter, Berlin 1952), S. 403.

⁸ F. TÖDT, Z. Elektrochem. 54, 485 (1950). – Gemeinschaftsarbeit von F. WINDISCH, W. HEUMANN und CHR. GOSLICH, sowie F. TÖDT und G. TESKE, Biochem. Z. 323, 192 (1952).

⁹ F. WINDISCH, H. HAEHN und W. HEUMANN, Arch. Geschwulstforsch. 6, 64 (1953), und zwar S. 67–69.

¹ F. WINDISCH, W. HEUMANN und CHR. GOSLICH, Z. Naturforsch. 8b, 305 (1953).

² F. WINDISCH, H. HAEHN und W. HEUMANN, Arch. Geschwulstforsch. 6, 64 (1953).

³ F. WINDISCH, W. HEUMANN und CHR. GOSLICH, Biol. Zbl. 74, 646 (1955).

Vergleich der Endvermehrungszahlen von anabiotischen Atmungs- und Gärungshefen nach anoxygener Überimpfung in Malzwürze bzw. Zellkochsaft + Malzwürze (1:1)

| Testzellen | Verwendetes Substrat | Zellenzahl/mm ³ | |
|---|--|----------------------------|---------------|
| | | Aussaatmenge | Endzellenzahl |
| <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> Rasse U (anabiotisch) $Q_{\text{N}_2} = 280$ $Q_{\text{CO}_2} : Q_{\text{O}_2} \approx 1$ | Zellkochsaft aus <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> U + Malzwürze | 500 | 24 000 |
| | Zellkochsaft aus <i>Torulopsis</i> S + Malzwürze | 200 | 14 500 |
| | Zellkochsaft aus <i>Candida Mycoderma</i> + Malzwürze | 300 | 20 500 |
| | 10%ige Malzwürze | 500 | unverändert |
| <i>Torulopsis</i> Stamm S $Q_{\text{O}_2} : Q_{\text{CO}_2} \approx 1$ | Zellkochsaft aus <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> U + Malzwürze | 4000 | unverändert |
| | 10%ige Malzwürze | 5000 | unverändert |
| <i>Candida Mycoderma</i> (REESS) $Q_{\text{O}_2} : Q_{\text{CO}_2} \approx 1$ | Zellkochsaft aus <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> U + Malzwürze | 2000 | unverändert |
| | Zellkochsaft aus <i>Candida Mycoderma</i> + Malzwürze | 2500 | unverändert |
| | 10%ige Malzwürze | 6000 | unverändert |

Vergleich mit den übrigen Gruppen (*Torulopsis* Stamm S, *Candida Mycoderma*) zeigt es sich demgegenüber, dass der in allen untersuchten Zellkochsäften nachgewiesene Reserveenergiestoff *nur* in Kontakt mit den Gärungszellen, *nicht* aber mit den Atmungszellen eine feststellbare generative Wirkung ausübt. Hieraus gibt sich zugleich zu erkennen, dass dem letzteren Zelltypus (aerob ausschliesslich atmend) ein aktivierender Co-Faktor fehlt, der offensichtlich nur dem aerob gärenden Zelltypus eigen ist¹⁰. Es besteht also ein deutlicher Zusammenhang zwischen aerobem Gärungsvermögen und Aktivierbarkeit des Reserveenergiestoffes in generativer Hinsicht, obwohl andererseits die Zuckerspaltung, was hier noch einmal besonders hervorgehoben werden soll, ergonisch *nicht* dazu imstande ist, das Zellwachstum unter anaeroben Bedingungen aufrechtzuerhalten bzw. nach erfolgter Sistierung zu reaktivieren¹¹.

Mit analoger Methodik konnten wir in Zellkochsäften aus dem Jensen-Sarkom der Ratte und anderen Krebsgeweben einen gleichartig wirkenden Reserveenergiestoff nachweisen. Diesen für die Krebsforschung bedeutungsvollen und weittragenden Befund möchten wir hier vorerst dokumentieren, um in nachfolgenden Arbeiten die experimentellen Belege zu geben und eingehender darüber zu berichten.

F. WINDISCH und W. NORDHEIM

Institut für Medizin und Biologie, Deutsche Akademie der Wissenschaften, Berlin, den 8. Dezember 1956.

Summary

In cell juice of aerobic fermenting and of only respiring yeast cells, a thermostable respiratory energy

reserve is found which under rigorous anoxybiotic conditions effects a generative reactivation in contact with anabiotic fermenting yeast cells, but *not* with only respiring ones. Also in cell juice of Jensen sarcoma and other carcinoma tissues, an adequate energy substance is recognized as being able to replace oxygen biologically.

Le transaminasi negli stati di deficienza di cocarbossilasi

In precedenti ricerche avevo dimostrato, in condizioni (avitaminosi C) di ridotta utilizzazione di chetoacidi transaminabili¹ (ac. piruvico, ac. α -chetoglutarico), un aumento della glutammico piruvico e della glutammico ossalacetico transaminasi, cioè di quegli enzimi che presiedono al metabolismo di dette sostanze per via transaminativa. Ed essendo tale aumento direttamente proporzionale alla aumentata concentrazione dei due chetoacidi, e alla diminuzione della cocarbossilasi, ho formulato l'ipotesi che la transaminasi possa avere funzione vicariante nei confronti della cocarbossilasi; e cioè, ogni qualvolta per diminuita attività cocarbossilasica si verifici aumento di chetoacidi, essa intervenga a trasformare questi ultimi in composti (i corrispondenti, aminoacidi) a dissociazione acida minore, proteggendo in tal modo la riserva alcalina dell'organismo compromessa. Onde controllare l'attendibilità di questa ipotesi, ho esteso lo studio delle transaminasi ad altri stati di α -chetoacidosi. Ho scelto il diabete allossanico, in quanto, in queste condizioni sperimentali, si verifica un quadro analogo a quello già da me dimostrato nell'avitaminosi C: e cioè una aumentata concentrazione di acido piru-

¹⁰ F. WINDISCH, W. NORDHEIM und W. HEUMANN, Arch. Mikrobiol. 1956 (im Druck).

¹¹ F. WINDISCH, W. HEUMANN und CHR. GOSLICH, Biol. Zbl. 74, 646 (1955), und zwar S. 656–660.

¹ E. BARBIERI, La Ricerca Scientifica, Supplemento anno 25, 325 (1955); Riv. Biol. 1956 (in corso di stampa); Atti Istituto Veneto Sci. Lett. Arti 112, 159 (1954); Arch. Sci. Biol. 39, 443 (1955).