

$T_2, 4, 6, 207$ ,  $T_3$  und  $T_5$  sind gleich empfindlich, nur  $T_7$  besitzt eine «intermediäre» Stellung zwischen der geraden und ungeraden Reihe.

Zunächst war notwendig festzustellen, ob der untersuchte Stoff eine direkte phagozide Wirkung besitzt. Zu diesem Zwecke wurden die Phagensuspensionen zu verschiedener Konzentration derselben, die oberhalb der bakteriziden Wirkung liegt, zugesetzt und bis zu 24 h inkubiert. Die Phagen blieben nach dieser Einwirkungszeit virulent. Eine einfache phagozide Wirkung als Ursache des Effektes kann somit ausgeschlossen werden.

Die Befunde über den Wirkungseintritt ergeben sich aus den anliegenden Kurven. Bei der Versuchsanordnung tritt Bakteriolyse ohne Hemmstoff nach  $1\frac{1}{2}$  bis 2 h ein. Volle Schutzwirkung gegenüber der Phagenwirkung tritt nach Zusatz der Hemmstoffe noch dann ein, wenn der Zusatz 30 min vor der Lyse erfolgt. Es ist möglich, dass in gewissen Konzentrationen auch noch geringere Intervalle des Zusatzes vor der definitiven Lyse wirksam sind. Die Wirkung tritt somit bis zu einem ganz bestimmten Entwicklungspunkt der Phagen, beziehungsweise der Bakterien ein.

Die Bestimmungen der Phagenmenge (siehe Tab. II) im Verlauf der Hemmversuche ergab, dass die untersuchten Stoffe bei unbeeinträchtigtem Wachstum der Bakterien eine Vermehrung der Phagen verhindern. Die Hemmung der Phagenentwicklung ist sofort oder mindestens nach einer Einwirkungszeit von ungefähr 30 min manifest. Kurz nach der Zugabe der Wirksubstanz kann noch ein leichtes Ansteigen des Phagentitors festgestellt werden; danach bleibt die Gesamt-Phagenmenge statio-när. Meist tritt ein Rückgang der freien Phagen auf.

Die phagenhemmende Wirkung beruht daher auf einer Entwicklungshemmung der Phagen.

Verhinderung der Lyse tritt solange ein, als die Zahl der Phagen die für komplette Lyse notwendige Menge nicht erreicht. Die relative Abnahme der freien Phagen gegenüber den gesamten kann dafür sprechen, dass die Phagen in einer unwirksamen Form am Bakterium adsorbiert werden und dadurch ihre Vermehrung ausbleibt, oder dass keine wirksamen freien Phagen gebildet und abgegeben werden. Da die Phagen selbst offenbar nicht beeinflusst werden, können die Stoffe spezifisch auf einen Mechanismus der Bakterien wirken, der für die Phagenentwicklung massgebend ist. Die früher geäusserte Auf-fassung über den Wirkungsmechanismus der untersuchten Stoffe wird durch diese Befunde bestätigt; über analoge Befunde mit weiteren Stoffen wird später berichtet werden.

Für überaus sorgfältige Durchführung der Versuche sind wir Fr. M. TRITSCHLER zu grossem Dank verpflichtet.

R. MEIER, L. NEIPP und W. KUNZ

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, 28. Juli 1958.

### Summary

The described antiphage substance: bis-[[4-[4-(3-diethylamino-propylamino)-6-methyl-2-pyrimidyl-amino]-phenyl]-sulphone tetrahydrochloride tetrahydrate produces its effect not through a direct phagocytic action but indirectly through an inhibition of the phage production. The effect is complete during the whole logarithmic growth phase as long as the phage concentration is kept under the limit, critical for bacteriolytic.

## Ähnlichkeit und Unterschied Leukozytenemigrationsfördernder Wirkung gram-positiver und gram-negativer Bakterien

Polysaccharide aus gram-negativen Bakterien und ihren Kulturfiltraten besitzen auf Leukozyten zwei Wirkungen:

1. Bei gleichmässiger Verteilung im Milieu, zirkuläre Auswanderungsförderung.

2. Bei exzentrischer Anbringung des Polysaccharids eine gerichtete Auswanderung der Leukozyten.

Auf Grund unserer Befunde ist anzunehmen, dass beide Reaktionen auf dem gleichen Wirkungsmechanismus beruhen<sup>1</sup>. Aus gram-positiven Bakterien isolierte Polysaccharide wurden bisher unwirksam gefunden<sup>2</sup>, nur bestimmte Filtrate von «Plasma»-Kulturen zeigen chemotaktische Wirkung<sup>3</sup>.

Gram-negative und gram-positive *lebende* Bakterien, exzentrisch zu Leukozyten angebracht, bewirken, wie die Polysaccharide gram-negativer Bakterien, eine gerichtete Auswanderung<sup>4</sup>. Es wurde bisher nicht untersucht, ob mit lebenden Bakterien eine zirkuläre Auswanderungsförderung der Leukozyten erreicht werden kann.

Die Feststellung scheint aber von besonderer Wichtigkeit, ob die Wirkung gram-negativer lebender Bakterien mit derjenigen ihrer Polysaccharide völlig identisch ist, und ob diese mit derjenigen lebender gram-positiver Keime in jeder Beziehung übereinstimmt. Um diesen Nachweis zu erhalten, sind die verschiedenen genannten Versuchsvarianten für gram-positive und gram-negative, lebende Keime durchzuführen. Zur Untersuchung von Wirkungen lebender Bakterien auf Zellen ist die Einhaltung genau ausgearbeiteter Versuchsbedingungen notwendig, um spezifische Wirkungen von «Nährboden-konkurrenzphänomenen» von anderen Effekten, wie pH-Änderung, Fibrinolyse, Toxinproduktion usw. zu trennen. Es muss ferner ausgeschlossen werden, dass wirksames Nährbodenmaterial mit den Bakterien eingeschleppt wird<sup>5</sup>.

Folgende Versuchsanordnung hat sich als geeignet erwiesen: 24 h alte Ei-Bouillon (gram-positive Keime) oder Glucose-Bouillon (*Proteus vulg. OX<sub>19</sub>*) Kulturen werden zentrifugiert, die Nährmedien abgehebert und die Bakterien in der gleichen Menge Tyrodelösung aufgenommen. Diese Bakterienaufschwemmung wurde als Ausgangslösung für die Überschichtungsversuche benutzt. Bei Züchtung der Keime auf synthetischen Nährböden wurde die 24 h alte Kultur direkt als Ausgangslösung verwendet. Von diesen Ausgangslösungen wurden Tyrodeverdünnungen hergestellt. Verwendete Keime: *Proteus vulg. OX<sub>19</sub>*, *Enterococc. faecalis* 51, *Staph. haemolyticus* b3, *Streptococc. pyogenes* 36.

Die Versuchsergebnisse sind für *Proteus vulg. OX<sub>19</sub>* und *Streptococc. pyogenes* 36 in der Tabelle zusammengestellt. Die beiden andern angegebenen gram-positiven Keime verhalten sich ähnlich wie *Streptococc. pyogenes*.

Das Resultat der Versuche ist eindeutig. Es ergibt sich mit lebenden gram-negativen Bakterien in dieser Anord-

<sup>1</sup> R. MEIER und B. SCHÄR, Naunyn-Schmiedeberg Arch. 234, 102 (1958).

<sup>2</sup> R. MEIER und B. SCHÄR, Hoppe-Seyl. Z. 307, 103 (1957).

<sup>3</sup> R. MEIER, Helv. chim. Acta 24, 134/E (1941).

<sup>4</sup> R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 9 (3), 93 (1953). - B. SCHÄR, F. W. KAHNT und G. HUBER, Helv. physiol. Acta 15 (1), 116 (1957). - R. MEIER, P. A. DESAULLES und B. SCHÄR, Arch. exp. Path. Pharmak. 224 (2), 104 (1955).

<sup>5</sup> R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 13, 492 (1957).

Tabelle I

Verdünnung des Nährbodens	Exzentrische Auswanderungsförderung «Chemotaxis»	Zirkuläre Auswanderungsförderung					
		1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	1:1000000
<i>Proteus vulg.</i> , lebend . . . . .	+	+	+	+	+	+-	Ø
<i>Proteus vulg.</i> , tot . . . . .	+	-	+-	+	+	+	Ø
<i>Strept. pyog.</i> , lebend . . . . .	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
<i>Strept. pyog.</i> , tot . . . . .	-	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
PS-Konzentrationen . . . . .		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$
Polysacch. aus <i>Proteus vulg.</i> . . . . .	+	+ -	+	+	+	+	+
Polysacch. aus <i>Strept. pyog.</i> . . . . .	-	Ø	Ø	Ø			+

nung eine zirkuläre Auswanderungsbeschleunigung. Sie ist von der Zahl der zugesetzten Bakterien eindeutig abhängig, sie gleicht in allen Einzelheiten der in gleicher Anordnung mit Polysaccharid gram-negativer Bakterien hervorgerufenen. Ein Unterschied mag darin bestehen, dass bei hohen Keimzahlen schneller eine Hemmung der Leukozyten auftritt als bei analoger Steigerung der Polysaccharide, erklärbar durch zusätzliche Produktion toxischer Stoffe.

Gram-positive Bakterien, über die Leukozytenkulturen gleichmäßig verteilt, ergeben ebenfalls eine von der Zahl der Bakterien abhängig zirkuläre Auswanderungsförderung der Leukozyten. Sie unterscheidet sich von der durch lebende gram-negative hervorgebrachten dadurch, dass die «Konzentrations-Wirkungskurve» eine andere ist. Die Auswanderungshemmung bei hohen Keimzahlen geht bei zunehmender Verdünnung in eine massive Auswanderungsförderung über, die mit weiterer Verdünnung rasch wieder auf die Auswanderungswerte der Kontrollen zurückgeht.

Ausser den quantitativen Differenzen der Wirkung von gram-negativen und gram-positiven Keimen sind solche qualitativer Art vorhanden. Bei der exzentrischen Auswanderungsförderung, der «Chemotaxis», kommt es bei gram-positiven Bakterien leichter zu einer mehr gehäuftten Ansammlung der Leukozyten, ohne die bei gram-negativen Keimen meist erhebliche Verlängerung der Auswanderungszone. Die Auswanderung unter Einfluss der gram-positiven Keime ist meist dichter als bei gram-negativen. Die Granulocyten an der Peripherie des Auswanderungsareals können eine zirkuläre wallartige Ansammlung bilden.

Die vorliegenden Versuche ergaben somit, dass lebende gram-positive und gram-negative Bakterien in ähnlicher Weise eine Steigerung der zirkulären und exzentrischen Leukozytenemigration hervorrufen. Bei gram-negativen ist diese Wirkung auf die in ihnen enthaltenen oder durch sie produzierten Polysaccharide zu beziehen, während bei gram-positiven Bakterien mit Sicherheit ein anderer Mechanismus und wahrscheinlich auch andere Stoffe für den Effekt verantwortlich sind. Es ist bemerkenswert, dass ein gleicher biologischer Effekt offenbar durch differente biochemische Mechanismen ausgelöst wird.

R. MEIER und B. SCHÄR

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, 14. Juli 1958.

#### Summary

Live gram-positive and gram-negative bacteria cause circular and 'chemotactic' eccentric promotion of leucocyte emigration in a similar manner. In the case of gram-

negative bacteria this effect corresponds to that of their polysaccharides, whereas in the case of gram-positive bacteria the polysaccharides are inactive.

Thus, although gram-positive and gram-negative bacteria both have a similar effect on leucocyte emigration, the underlying mechanism of action is different.

#### Some Observations on the Metabolism of $S^{35}$ -Methionine During Development of the Sea Urchin Eggs

In the unfertilized egg of the sea urchin *Paracentrotus lividus* the activity of sulfur-labeled methionine has been found to accumulate mainly in the so-called nonprotein fraction (fraction soluble in 10% trichloroacetic acid, TCA). Upon fertilization (NAKANO and MONROY<sup>1</sup>) or parthenogenetic activation (NAKANO, GIUDICE, and MONROY)<sup>2</sup> the activity appears to be rapidly transferred to other cell components, among these the mitochondria. At the blastula stage an equilibrium appears to have been reached and, in fact, the activity of the TCA-soluble fraction remains almost constant until the pluteus stage. Then it appeared interesting to find out<sup>1</sup> in which form the labeled methionine is taken up and stored by the unfertilized egg; and<sup>2</sup> how it is metabolized in the course of development. Some preliminary results of this investigation will be reported here. The  $S^{35}$ -DL-methionine was administered to the eggs as previously described (NAKANO and MONROY<sup>3</sup>). The eggs or embryos were homogenized (after removal of the jelly coat in the case of unfertilized eggs) in 10% TCA in the cold and the homogenate centrifuged at 1250 g for 10 min. The sediment was rehomogenized and, after standing overnight in the refrigerator, centrifuged as before. The extracts were pooled and shaken with several changes of ether to remove TCA. After being desalted and concentrated to a small volume, one part of the extract was hydrolyzed (with 6 N hydrochloric acid for 12 hours at 110° C). Both the hydrolyzed and nonhydrolyzed extracts were chromatographed one-dimensionally in duplicate with tertiary-butanol-formic acid-water (70:15:15) as the solvent.

For the location of the  $S^{35}$ -containing compounds the chromatogram was left in contact with an X-ray film for about 30 days. One chromatogram of each series was spread with nynhydrin, the other with potassium iodate.

<sup>1</sup> E. NAKANO and A. MONROY, *Exp. Cell Res.* 14, 236 (1958).

<sup>2</sup> E. NAKANO, G. GIUDICE, and A. MONROY, *Exper.* 14, 11 (1958).

<sup>3</sup> E. NAKANO and A. MONROY, *Exper.* 13, 416 (1957); *Exp. Cell Res.* 14, 236 (1958).