

précipitation données par les groupes de type 1-1, 2-1 et 2-2, cette ligne se situe entre la ligne commune entre les Hp 1 et les Hp 2, et la ligne supplémentaire observée chez les sujets de type 2-1 et 2-2.

C. – *Expériences d'épuisements d'anti-sérums de lapins anti-sérums de différents type d'haptoglobine*. Des sérums de lapins anti-sérum humain de type Hp 1-1 épuisés par du sérum humain de type Hp 2-2 ne donnent plus de réaction de précipitation avec aucun sérum des trois types. Inversement, des sérums de lapins anti-sérum humain de type Hp 2-2 épuisés par du sérum humain de type Hp 1-1 ne réagissent plus en double diffusion contre les sérums des trois types.

Conclusion

Comme BEARN et FRANKLIN, nous pensons à la suite de ces expériences que les trois types d'haptoglobine ont une communauté antigénique indiscutable comme en font foi la ligne de précipitation commune aux trois types de sérum et les expériences d'épuisement des anti-sérums.

On peut cependant soulever l'hypothèse devant l'existence d'une deuxième ligne de précipitation dans les sérums de type 2-1 ou 2-2, soit d'une différence antigénique partielle entre les complexes de l'haptoglobine dimère et ceux de l'haptoglobine monomère, soit de l'extériorisation de phénomène de diffusion distincts entre deux parties du même complexe (dépolymérisation partielle de l'haptoglobine dimère).

J. M. FINE et A. BATTISTINI

Centre National de Transfusion Sanguine, Paris et
Clinique Pédiatrique de Parme (Italie), le 20 juillet 1959.

Summary

Immunological studies of the haptoglobin-hemoglobin complexes of different serum groups show different mobility by immuno-electrophoretic technique, and the antigenic relationship of these haptoglobins.

Zur Wirkungsweise einiger Katalase-Inhibitoren

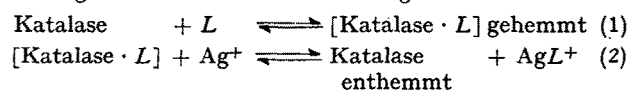
Eine grosse Anzahl von Verbindungen der verschiedenartigsten Struktur hemmen die Katalase. Drei anorganische Partikel zeichnen sich durch besonders hohe Wirksamkeit aus: CN^- , N_3^- und SH^- ¹. Von diesen Verbindungen ist zugleich bekannt, dass sie im Tierversuch gegen harte Strahlung einen gewissen Schutz auszuüben vermögen². Aus verschiedenen Arbeiten³ geht hervor, dass im Mechanismus der chemischen Strahlenschutzwirkung die Katalase eine bedeutende Rolle spielt. Es war daher von Interesse, zu untersuchen, auf welchem Wege die Katalasehemmung durch CN^- , N_3^- und SH^- zustande kommt.

Die drei erwähnten Partikel können sich als starke einzählige Komplexliganden betätigen. Von Komplexen des Ferrihämoglobins, das der Katalase strukturell nahesteht, mit diesen Liganden L sind Stabilitätskonstanten bekannt⁴ (Tab.).

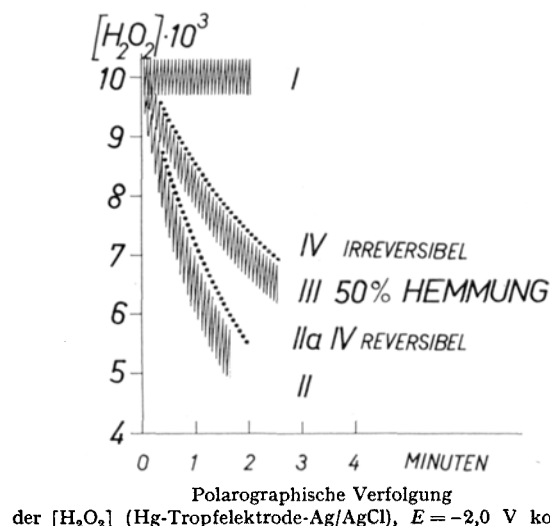
Tabelle

L	$\log K$	5%ige Katalasehemmung ¹
CN^-	7,2	$6 \cdot 10^{-6} \text{ M}$
N_3^-	5,1	$4 \cdot 10^{-7} \text{ M}$
SH^-	5,3	$8 \cdot 10^{-6} \text{ M}$
CNS^-	2,5	$> 10^{-1} \text{ M}$
F^-	2,2	$> 10^{-1} \text{ M}$
Imidazol	2,6	$> 10^{-1} \text{ M}$

Ein Vergleich der Stabilitätskonstanten mit der Ligandenkonzentration, die eine 50%ige Hemmung hervorzurufen vermag, legt den Gedanken nahe, dass die Hemmreaktion primär durch Besetzung einer Koordinationsstelle am zentralen Fe der Katalase zustande kommt. Es wird dadurch die Ausbildung des aktiven «compound I»⁵ verhindert. Wenn dies der Fall ist, dann muss – mindestens für kurze Zeit – ein reversibles Komplexbildungsgleichgewicht (1) existieren, und durch Zugabe geeigneter Partikel, zum Beispiel Ag^+ , müsste sich dieses Gleichgewicht wieder nach links verschieben lassen (2), was notwendigerweise zu einer Enthemmung der Katalase führt.



Um diesen Sachverhalt für die Liganden CN^- , N_3^- und SH^- zu überprüfen, bedienten wir uns für die Aktivitätsbestimmungen der polarographischen Methode, die zur Messung der anfänglichen hohen « α -Aktivität» der Katalase⁶ besonders geeignet ist. H_2O_2 zeigt bei $-1,1$ Volt eine Reduktionsstufe, die quantitativ gut auswertbar ist. Wir bestimmten die Stufenhöhe bei $-2,0$ Volt. Bei konstant gehaltener Spannung liefert das Polarogramm direkt eine kontinuierliche H_2O_2 -Konzentrations-Zeitkurve (Abb.).



¹ E. BOYLAND und E. GALICO, Brit. J. Cancer 6, 160 (1952).

² Z. M. BACQ und H. HERVÉ, Brit. J. Radiol. 24, 617 (1951). – N. W. LUTSCHNIK und J. A. TIMOFEEJEW-RESSOWSKAJA, Ber. Akad. Wiss. UdSSR 116, 407 (1957). – G. GUIDOTTI und F. PASSALACQUA, Farmaca, Ediz. sci. 10, 214 (1955). – H. P. RILEY, Genetics 42, 593 (1957). – Z. M. BACQ, H. MUGARD und A. HERVÉ, Acta radiol. 38, 489 (1952).

³ O. WARBURG, W. SCHRÖDER, H. GEWITZ und W. VÖLKER, Naturwissenschaften 45, 192 (1958). – R. N. FEINSTEIN, G. J. COTTER und M. M. HAMPTON, Amer. J. Physiol. 177, 156 (1954).

⁴ C. D. CORYELL, Chemical Specificity in Biological Interactions (New York 1954), p. 108.

⁵ D. KEILIN und D. NICHOLS, Biochim. biophys. Acta 29, 302 (1958).

⁶ P. GEORGE, Biochem. J. 44, 197 (1949).

Alle Versuche führten wir in 0,05 M Phosphatpuffer vom pH 7 durch. Die Temperatur betrug $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Die anfängliche H_2O_2 -Konzentration betrug immer 10^{-2} . Zur Versuchszeit 0 wird auf ein Endvolumen von 20 ml 1 ml einer $4 \times 10^{-4}\%$ igen frisch bereiteten Lösung von kristallisierter Katalase Boehringer zugegeben. Die anfängliche Steilheit der $[\text{H}_2\text{O}_2]$ -Zeitkurve nahmen wir als Mass für die α -Aktivität der Katalase⁶.

Mit dieser Messanordnung führten wir nun mit den drei Hemmstoffen CN^- , N_3^- und SH^- eine analoge Versuchsreihe durch. In Versuch I wird zunächst die Reinheit der H_2O_2 -Lösung sowie die polarographische Apparatur und in Versuch II die α -Aktivität der Katalase kontrolliert. In Versuch III wird unmittelbar nach der Katalase soviel Inhibitor zugesetzt, dass eine 50%ige Hemmung eintritt. In Versuch IIa wird vor dem Hemmstoff ausserdem noch Ag^+ zugesetzt und kontrolliert, ob die $[\text{Ag}^+]$ ausreicht, um den Hemmstoff zu binden. In Versuch IV, der entscheidet, ob eine Enthemmung im Sinne von (2) möglich ist, wählten wir die umgekehrte Reihenfolge der Zugabe: Katalase, Hemmstoff, Ag^+ .

Es zeigte sich, dass sich bei Versuchen vom Typus IV die drei Hemmstoffe grundsätzlich verschieden verhalten. Die einmal durch CN^- gehemmte Katalase kann wieder reaktiviert werden durch Zugabe von Ag^+ . Die CN^- -Hemmung ist somit, im Einklang mit den Versuchen von CHANCE⁷, primär auf eine reversible Komplexbildungsreaktion zurückzuführen. Hingegen kann die durch SH^- und N_3^- gehemmte Katalase nicht wieder enthemmt werden, was dafür spricht, dass hier ein ganz anderer Mechanismus wirksam ist oder dass nach der Komplexbildung sofort eine Folgereaktion eintritt⁸, die den Vorgang irreversibel macht.

Fräulein LUCIA GRAF danken wir für die Durchführung der Katalaseversuche. Der Stiftung zur Förderung der Arbeiten auf dem Gebiete der Atomwissenschaften danken wir bestens für die gewährte Unterstützung.

S. FALLAB und H. ERLÉNMEYER

Anstalt für anorganische Chemie, Basel, 19. November 1959.

Summary

The mechanism of catalase inhibition by CN^- , N_3^- , and SH^- has been investigated by a polarographic method. CN^- has been found to inhibit reversibly by a coordinating mechanism, whereas N_3^- and SH^- inhibits catalase irreversibly.

⁷ B. CHANCE, J. biol. Chem. 179, 1299 (1949).

⁸ In Übereinstimmung mit den Versuchen von D. KEILIN und D. NICHOLS, wonach N_3^- peroxydatisch oxydiert wird⁵.

On the Protease and Amylase Production in the Midgut Gland of Young and Mature African Snails

The African Giant Snail, *Achatina fulica* BOWDICH, changes its diet and feeding habits markedly as it grows older: whereas young snails feed mainly on fresh leaves and other green parts of plants, the older, mature snails are noted for their omnivorous feeding habits. They usually feed on decaying matter, even on small dead animals^{1,2}. Such an obvious change in feeding habits

suggests the possibility of a change in the enzyme pattern of the large midgut gland, in that young snails may produce more carbohydrates and probably less proteases than older ones.

To check this hypothesis 'enzyme powders' were made of glands from young (shell-length less than 4 cm) and older snails (shell-length 7 cm and over) which had previously been starved for 1–2 weeks, during which time feces was removed regularly. Water was available to them all the time to prevent estivation. The enzyme activity of the powders was determined (see for the technique used of making enzyme powders, the enzyme extracts and the determination of the amylase and protease activity 7 and 8). The results of these experiments were (Table):

Table

(a) Amylase (amount of reducing sugars present, expressed in mg glucose)

Small snails	Large snails
70.4	70.4
73.4	70.4
73.1	69.2
73.2	70.4
	70.4

(b) Protease (SØRENSEN's formaldehyde titration of 2 ml of enzyme extract-substrate mixture)

0.02	0.22
0.15	0.21
0.15	0.17
0.09	0.21
0.10	0.18
	0.26
	0.18

The significance of the differences in the population of data for amylase and protease activity between the young and the old snails was statistically tested by applying a *t*-test for small samples of unequal size³. The *p*-values for amylase- and protease activity in both groups are 0.02 and approximately 0.003 respectively. Hence, there is a significant difference in the activities of these two enzymes between the groups: *in the herbivorous snails slightly more amylase is produced than in the old omnivorous ones. The latter produce definitely more proteases.*

The changes of the enzyme activity in *Achatina* as it grows older agree very well with the changes observed in its feeding habits: the enzyme production 'fits' in the changed (normal) diet. The question now arises: is this change in enzyme production caused by that in feeding habits, or is it an integrative part of this latter change? Individual, diet depending changes in the digestive enzyme production have been reported to exist in a number of cases^{4–6}, but such clear-cut correlative changes were not demonstrated to exist in the older *Achatina*^{7–9}. It seems

³ We are indebted to Dr. A. L. TESTER, who kindly checked the results.

⁴ M. I. GROSSMAN, H. GREENGARD, and A. C. IVY, Amer. J. Physiol. 138, 676 (1942/43).

⁵ B. T. SQUIRES, J. Physiol. 119, 153 (1953).

⁶ W. E. KNOX, V. H. AUERBACH, and E. C. C. LIN, Physiol. Rev. 36, 164 (1956).

⁷ C. L. PROSSER and P. B. VAN WEEL, Physiol. Zool. 31, 171 (1958).

⁸ P. B. VAN WEEL, Z. vgl. Physiol., in print (1959).

⁹ P. B. VAN WEEL, Exper. 15, 110 (1959).

¹ P. B. VAN WEEL, Chron. Nat. 104, 241 (1948).

² H. W. LANGE, Pac. Scie. 4, 323 (1950).