



Fig. 1. a) Elektrophorese-Gradient von isoelektrisch präzipitiertem α -Crystallin. 165 V, 12 mA, 8°C, 40 min, 0,1 M NaOAc, 0,05 M Glycin, pH 7,8 (NaOH). b) Sedimentations-Gradient vom gleichen Präparat. 50000 rpm, 1500 sec, 17°C, 15° $\leq$, 1,1% Conc.



Fig. 2. a) und b) Sedimentationsgradienten von ein- und zweimal präzipitiertem α -Crystallin. 42000 rpm, 1500 sec, 45° $\leq$, 1,2% Conc., Temp.: a: 21,1°C; b: 20,0°C.

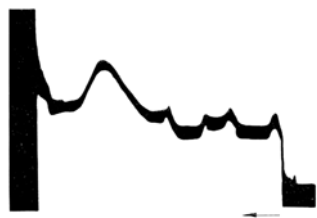


Fig. 3. Sedimentationsgradient von zweimal isoelektrisch präzipitiertem α -Crystallin, wieder aufgelöst in 0,1 M NaOAc, 0,05 M Glycin, pH 7,1; 1,4% Conc.; 47,760 rpm, 2820 sec, 12,1°C, 45° $\leq$.

Wenn man die Lösung von α -Crystallin bis pH 2.5 ansäuert, entsteht eine klare Lösung, die in der Ultrazentrifuge nur *einen* Gradienten bildet mit einer Sedimentationskonstante von $S \sim 1$. Dies bedeutet, dass beide Komponenten zu einer einzelnen Verbindung dissoziieren. Dieses Spaltungsprodukt besitzt noch alle typischen Eiweisseigenschaften und ist serologisch identisch mit α -Crystallin.

Wenn man das isoelektrische Präzipitat bei pH 7.8 auflöst und diese Lösung wiederholt durch Ansäuern bei pH 5.0 präzipitiert und diesen Niederschlag erneut bei pH 7.8 auflöst, so ändert sich das Sedimentationsdiagramm. Die Konzentration der schnellen Komponente nimmt ab, die der langsamen Komponente nimmt zu. (Fig. 2a und 2b.)

Nach langdauernden Arbeitsgängen sowie nach fortgesetzter Sedimentation ergibt sich öfters eine Aggregation der α_B -Komponente: Figur 3.

Der verbleibende Hauptgradient rührt von der α_A -Komponente her. Dies weist darauf hin, dass der Unterschied zwischen den zwei Komponenten in der Form der Teilchen zu suchen ist, dass also die (native) α_A -Komponente entfaltet worden ist.

Die gleichmässige Abflachung des α_A -Gradienten während der Sedimentation weist darauf hin, dass die native Komponente kugelförmige Gestalt hat. Eine exakte Messung der Diffusionskonstante ist jedoch völlig ausgeschlossen, weil wir die zwei Komponenten nicht quantitativ trennen können, so dass es unmöglich ist, eine homogene Lösung der α_A -Komponente zu erhalten.

Rein theoretisch konnten wir aber beweisen²², dass eine Lösung, welche kugelförmige und gestreckte Teilchen von gleichem Molekulargewicht enthält, wobei das Achsenverhältnis der gestreckten Teilchen $1_1/1_0 = 20$ beträgt,

zwei Gradienten in der Ultrazentrifuge bildet, deren Sedimentationskonstanten sich wie 1 zu 2 verhalten, während sich bei der Elektrophorese dieser Lösung nur *ein* Gradient bilden muss, wie dies beim α -Crystallin der Fall ist. Dass es sich beim α -Crystallin um einen Entartungsvorgang handelt, worin mehr oder weniger globuläre, native Teilchen einer Streckung unterzogen werden, ehe die weitere Denaturierung fortschreiten kann, wird durch die obigen theoretischen Überlegungen wahrscheinlich gemacht und wird unterstützt durch die Kristallisationsversuche von Wood *et al.*²³. Diese Forscher arbeiteten mit Präparaten, welche durch ihre Bereitungsweise entartete Linseneiweisse enthielten. Die Nadelstruktur der $\alpha\alpha_B$ -Kristalle weist auf eine langgestreckte Form dieser entarteten Eiweissteilchen hin.

Die bisherige physikalisch-chemische Untersuchung des Linseneiweisses α -Crystallin ergibt ein Bild, das, obgleich noch hauptsächlich qualitativ, doch den Weg zeigt, nach welchem weitere quantitative Untersuchungen erfolgen müssen, um die Struktur dieses besonders interessanten Eiweisses zu klären.

W. F. BON

Laboratorium für Biochemie und Toxikologie der Universität Amsterdam (Niederlande), 7. April 1960.

Summary

Ultracentrifugal and electrophoretic investigations of the eye lens protein α -crystallin show the probability that this protein exists in the lens and in its solutions (between pH 3.5 and 9.5) in two sub-units only differing in shape: a globular and a stretched unit.

²² W. F. BON, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 78, 75 (1959).

²³ DON C. WOOD *et al.*, J. biol. Chem. 234, 329 (1959).

The Investigation of the Action of Ultrasound on some Proteid Substances. Part II.¹ The Action of Ultrasound on Diastase

Numerous publications which have appeared in recent years² show that in addition to engineering, medicine and biology, chemistry and particularly biochemistry represent a broad field of application for ultrasound. Its action on ferments has been established on oxidases³, blood catalase⁴, yeast ferments⁵, pepsin⁶, salivary diastase⁷, and tripsin⁸.

¹ Part I: Bull. Soc. chim. Belgrade (in press).

² L. BERGMANN, *Ultraschall und seine Anwendung in Wissenschaft und Technik* (Zürich 1954).

³ R. J. CHRISTENSEN and R. SAMISCH, Plant Physiol. 9, 385 (1934).

⁴ H. SIBIYA and J. TOHUKU, Exp. Med. 30, 181 (1936).

⁵ H. VON EULER and B. SKARZYNSKI, Naturwissenschaften 31, 389 (1943).

⁶ G. MILHAUD and R. O. PRUDHOMME, Ann. Inst. Pasteur 76, 333 (1943).

⁷ M. BUONSANTO, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 28, 950 (1952).

⁸ V. STEFANOVIĆ, I. KOSTIĆ, M. BRESJANAC, and D. ŽIVANOVIĆ, Bull. Soc. chim. Belgrade, in press.

⁹ R. WILLSTÄTTER *et al.*, Z. physiol. Chem. 126, 143 (1923).

Time of ultrasonic treatment	Enzyme activity in Willstätters units	pH values of solution
0 min	9.9×10^{-4}	5.50
5 min	8.5×10^{-4}	5.50
10 min	7.0×10^{-4}	5.20
15 min	5.6×10^{-4}	5.05
20 min	4.8×10^{-4}	4.90
30 min	2.7×10^{-4}	4.70

The results obtained show that the activity of 0.5% diastase solutions and the pH values have been decreasing gradually but regularly.

These investigations are of significance for application of ultrasound in practical medicine as well. The mechanism of the action of ultrasound being still insufficiently explained, it is necessary to be careful when applying it for therapeutic purposes. Just for that reason, the investigation of its action on substances contained in human body is of great importance, since it offers the possibility of avoiding mistakes and accidents when applying ultrasound for therapy. We have investigated the action of ultrasound on diastase solution (0.5% B. D. H. make) and in each experiment we have used 10 ml of it.

The ultrasound of frequency 3 Mc/s and intensity of 1.5 W/sq.cm. has been obtained from a Yugoslav make of generator. The solutions have been placed in a flask, the bottom of the flask being made of thin gum. The samples were exposed for the period of 0, 5, 10, 20, and 30 min respectively. During the exposure the solutions have been cooled in tap water in such a way that the temperature has never been allowed to rise above 30°C. The activities of the solutions were determined by WILLSTÄTTER'S method⁹ 5 h after the treatment. The pH values were measured immediately after exposure (Table).

V. STEFANOVIĆ, A. DJUKANOVIĆ,
K. VELAŠEVIĆ, and D. ŽIVANOVIĆ

Institute of Tuberculosis of the P. R. of Serbia, Belgrade, Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, Pharmaceutical Faculty, Belgrade, and Institute of Biology, Veterinary Faculty, Belgrade (Yugoslavia), March 11, 1960.

Zusammenfassung

Die Ultraschallwirkung auf Diastase wurde an deren Aktivitäts- und pH-Änderung untersucht. Verschieden lang beschallte, 0.5%ige wässrige Diastaselösungen ergaben stufenweises und regelmässiges Absinken der Aktivitäten und pH-Werte.

The Inhibitory Effect of 6-Azauracil Riboside on the Multiplication of Vaccinia Virus

6-Azauracil, and particularly its riboside, are known to inhibit the growth of a number of microorganisms^{1,2} and experimental tumours³⁻⁵. We now wish to report tests on the anti-virus activity of the two compounds.

In our screening test (diffusion of the tested substance through agar using Dulbecco's plaque method for virus giving a positive cytopathogenic effect) 6-azauracil proved inactive but its riboside exhibited notable activity on the multiplication of vaccinia virus compared with benzimidazole (Figures 1-3).

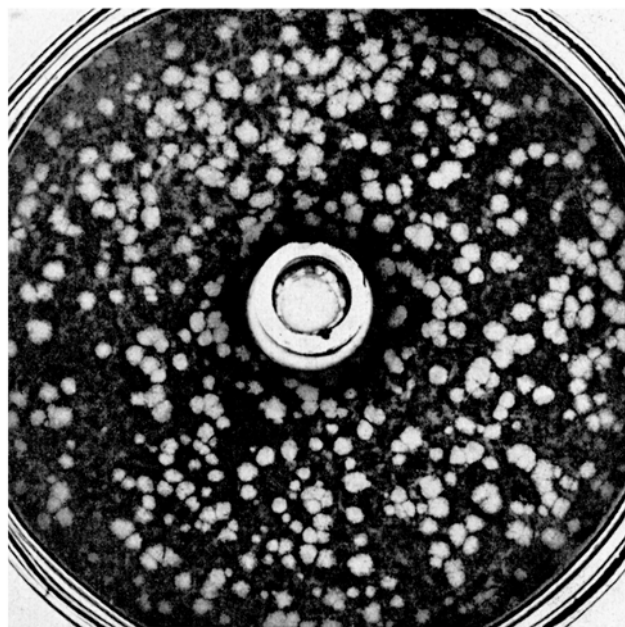


Fig. 1. 6-Azauracil ($4.4 \times 10^{-1} M$, incompletely dissolved). No zone of inhibition or toxicity.



Fig. 2. Benzimidazole ($8.5 \times 10^{-2} M$, Fluka, Switzerland). Zone of toxicity around the cylinder and further away narrow zone of inhibition.

¹ F. ŠORM and F. ŠKODA, *Chem. listy* 50, 827 (1956); *Coll. Czechoslov. chem. Comm.* 21, 487 (1956).

² R. E. HANDSCHUMACHER and A. D. WELCH, *Cancer Res.* 16, 965 (1956).

³ F. ŠORM, A. JAKUBOVIĆ, and L. ŠLECHTA, *Exper.* 12, 271 (1956).

⁴ T. M. HAKALA, L. W. LAW, and A. D. WELCH, *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 2, 113 (1956).

⁵ F. ŠORM and H. KEILOVÁ, *Exper.* 14, 215 (1958).