

Electrophoretic separation of protein components of blood serum was performed in cellulose columns (1.5 cm x 50 cm, veronal buffer, pH 8.4,  $I = 0.1$ ) at 5–11°C<sup>8</sup>. For each run, 1.5 ml of serum was used, the current was 30 mA provided by an applied voltage of 340 V, and the duration of runs 16 h. After the completion of electrophoresis, the liquid in the column was displaced at a rate of 10 ml/h in 1.5 ml fractions. The protein concentration of each fraction was estimated by a modified Folin procedure<sup>8</sup>.

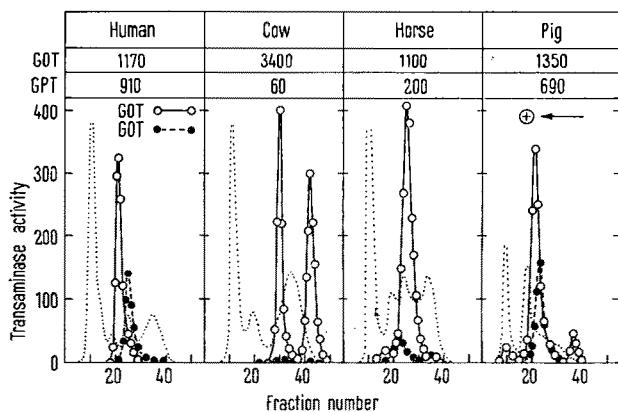
The results obtained are illustrated (Figure) with serum samples from man (hepatitis), cow (puerperal paresis), horse (paralytic myoglobinæmia) and pig (hepatitis diætætica). For all four species, both GOT and GPT activities were found in the  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulin fractions. Under the experimental conditions used, GOT migrated electrophoretically at a higher rate (man, pig) in comparison with GPT, at about the same rate (cow), or at a slightly lower rate (horse). The human serum analysed contained each of the two transaminases in single fractions, GOT

between the  $\alpha_2$ - and  $\beta$ -globulin fractions and GPT in the  $\beta$ -globulin fraction. A similar result was obtained when electrophoresis was carried out in a phosphate buffer (pH 7.6, 5 mM). The electrophoretic pattern of cow serum showed two peaks of GOT activity, one in the  $\beta$ -globulin region and the other with lower electrophoretic mobility. The main GOT activity of horse serum was found in the  $\beta$ -globulin fraction. In addition, a second peak of low activity was observed in the  $\alpha_1$ -globulin region. GPT activity was found in the  $\alpha_2$ -globulin fraction. Analyses of a series of sera from pigs with hepatos diætætica revealed that GOT appeared either in one peak in the  $\beta$ -globulin region or in two peaks, one (in the  $\beta$ -globulin region) being common to all samples studied and the other with lower electrophoretic mobility. In addition, certain pig sera gave a peak of low GOT activity in the albumin region. GPT was always found in a single peak migrating close to but slower than GOT.

The existence of two fractions with GOT activity in certain mammalian sera may be of importance in clinical studies. If the heterogeneity of this enzyme is actually due to two different molecular forms, these may differ in relative concentration from one disease to another, e.g., in myocardial diseases and hepatic disorders. In addition, it may well be that the two forms have different cellular origin. Our experience with a series of pig sera suggests that differences in clinical course and autopsy findings are reflected in electrophoretic patterns as far as the GOT activity is concerned.

**Zusammenfassung.** Es wird mit Hilfe der Elektrophorese nachgewiesen, dass Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase im Gegensatz zu Glutaminsäure-Brenztraubensäure-Transaminase in zwei verschiedenen Fraktionen des Blutserums von Kühen und Schweinen vorhanden ist.

K.-B. AUGUSTINSSON and K. ERNE



Electrophoretic patterns of sera from man, cow, horse, and pig. Transaminase activity expressed as  $\Delta A_{340} \times 10^3/\text{min/ml fraction}$ . Relative protein contents (...) measured by the Folin colour. Figures on top of each electropherogram refer to the transaminase activity of the original sample (dialysed against the buffer used in electrophoresis).

*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, University of Stockholm, and State Veterinary Medical Institute, Stockholm (Sweden), May 17, 1961.*

<sup>8</sup> K.-B. AUGUSTINSSON, Acta chem. scand. 13, 571 (1959).

## Erhöhung der Körpertemperatur von *Periplaneta americana* L. im Verlauf zweier Bakteriosen

Die Angehörigen der Unterklasse Insecta gelten als poikilotherm<sup>1</sup>. Für *Apis mellifera* konnte ESCH<sup>2</sup> neuerdings experimentell exakt nachweisen, dass ihr Wärmehaushalt als heterotherm aufzufassen ist. Uns interessierte die grundsätzliche Frage, ob Insekten im Verlauf von Infektionskrankheiten Veränderungen der Körpertemperatur zeigen.

Als Versuchstier wählten wir *Periplaneta americana*, da hier von KÖHLER<sup>3</sup> bereits einschlägige Beobachtungen am gesunden Tier vorliegen. GöSSWALD<sup>4</sup> berichtete unter anderem über Steigerungen der Körperfennnteratur desselben Versuchstieres nach Insekticid-Intoxikationen, wobei beachtet werden muss, dass ein Teil des Vergiftungsablaufes von einer Exzitation des begifteten Tieres begleitet ist. Die von uns verwendeten Erreger *Serratia marcescens* Bizio und *Pseudomonas aeruginosa* Migula (Stamm CCEB 481) werden von KRIEG<sup>5</sup> als fakultative Insektenpathogene kategorisiert. *Serratia marcescens* wurde bereits aus *Periplaneta americana* isoliert<sup>6</sup>, ausser-

dem liegen Infektionsversuche an einer nahen Verwandten, *Blatella germanica* L.<sup>7</sup>, vor. *Pseudomonas aeruginosa* erwies sich für andere Orthopteren bei intracoelomarer Injektion als hochgradig pathogen<sup>8</sup>. In Vorversuchen mit dem letztgenannten Erreger erzielten wir entsprechende Ergebnisse bei *Periplaneta americana*. Nach unseren Beobachtungen kommt es bei keiner der beiden Bakteriosen zu einer Exzitation der Versuchstiere. Vielmehr sind die Krankheitsverläufe unter anderem durch Erschlaffung der Antennen und zunehmende Akinese der Tiere gekennzeichnet. In Spätstadien sahen wir bei der durch *S. mar-*

<sup>1</sup> H. WEBER, *Grundriss der Insektenkunde*, 3. Auflage (1954).

<sup>2</sup> H. ESCH, Z. vgl. Physiol. 43, 305 (1960).

<sup>3</sup> F. KÖHLER, in Vorbereitung.

<sup>4</sup> K. GöSSWALD, XI. Intern. Entomologenkongress Wien (17. bis 25. 8. 1960).

<sup>5</sup> A. KRIEG, *Grundlagen der Insektenpathologie* (1961).

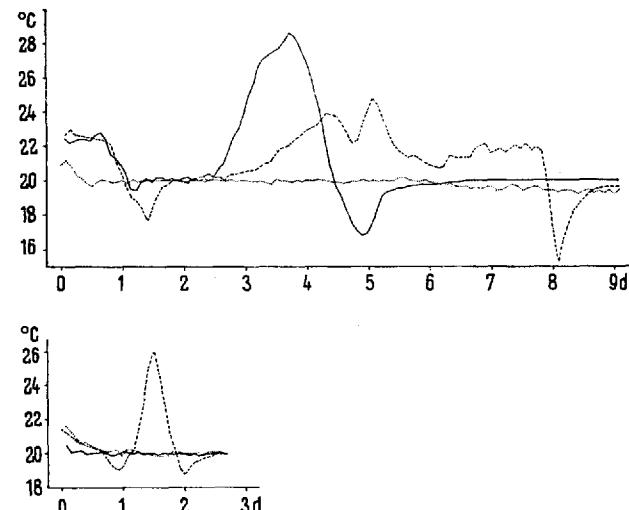
<sup>6</sup> E. A. STEINHAUS, Hilgardia 28, 351 (1959).

<sup>7</sup> A. M. HEIMPEL und A. S. WEST, Canad. J. Zool. 37, 169 (1959).

<sup>8</sup> G. E. BUCHER und J. M. STEPHENS, Canad. J. Microbiol. 3, 611 (1957).

*cescens* verursachten Erkrankung gelegentlich einen geringfügigen Extremitätentremor.

Für unsere Versuche verwendeten wir ausschliesslich männliche Imagines. Die Tiere wurden vor Versuchsbeginn bei Zimmertemperatur gehalten. Die Applikation der Erreger (kultiviert auf Merck-Standard-I-Nähragar) erfolgte unter  $\text{CO}_2$ -Narkose intraperitoneal (im Abdomen), um eine rasche Verbreitung der Bakterien im Wirt zu erreichen. Es wurde jeweils mit 1 bzw. 2 00-Insektennadeln Kultur infiziert. Auf eine genaue Dosierung verzichteten wir, da beim Punktieren des Rückengefäßes häufig Hämolymphe austritt, die unkontrollierbare Erregermengen wieder ausschwemmt. Als Kontrollen dienten unbehandelte Tiere und «leer» punktierte. Während des Versuches befanden sich die Tiere in einem Thermostaten bei  $20^\circ\text{C}$  und 50% relativer Luftfeuchtigkeit. Sie waren einzeln an Nadeln mit Kolophoniumwachs thorakal fixiert. Spangengloben boten Laufmöglichkeit. Die Temperaturmessung erfolgte mit Hilfe von punktgeschweißten Thermoelementen (Kupfer/Konstantan). Der Durchmesser der Drähte betrug je 0,02 mm, wobei der Messspitzen Durchmesser durch Säureeinwirkung auf  $50\text{ }\mu$  reduziert war. Die Meßspitze wurde in das 2. Thorakalstigma eingeführt, das Gegenthermoelement konstant bei  $0^\circ\text{C}$  gehalten. Ein Mehrfarben-Punkteschreiber registrierte



Verlauf der Temperatur von gesunden und infektionskranken *Periplaneta americana* (jeweils Einzeltiere). Oben: ..... unbeh. Kontrolle, ----- 1 Nadel *Serratia marcescens*, —— 2 Nadeln *Serratia marcescens*. Unten: —— unbeh. Kontrolle, ..... «leer» punktierte Kontrolle, ----- 2 Nadeln *Pseudomonas aeruginosa*.

zweistündlich die Thermospannung. Vor dem Versuch eichten wir die Spannungen der einzelnen Temperaturstufen ein, nach dem Versuch überprüften wir sie. Die Empfindlichkeit des Schreibers wurde so eingestellt, dass  $1^\circ\text{C}$  12 mm entsprach. Die Temperaturregistrierung begann etwa 1 h *post infectionem* und erstreckte sich über maximal 10 Tage. Bei einem Teil der Versuche liessen wir zur Kontrolle die Thermostattentemperatur mitschreiben. Die Versuche liefen meist an vier Tieren gleichzeitig (1 unbeh. Kontrolle, 1 «leer» punktierte Kontrolle, 2 Ver- suchstiere).

Bei sämtlichen infektionskranken Versuchstieren kam es nach einer Inkubationszeit von 1–2,5 Tagen zu einer signifikanten Erhöhung der Körpertemperatur, die bis zu einer maximalen Differenz von  $12,6^\circ\text{C}$  zur Umgebungstemperatur fortschreiten konnte. Wie aus der Figur (oben) zu ersehen ist, kann eine Erhöhung der Temperatur, wenn auch unter Schwankungen, bis zu einem Zeitraum von 5 Tagen beibehalten werden. Während der Inkubationsphase auftretende Temperaturunterschiede zur Umgebung vermögen wir noch nicht zu typisieren, sie sind teilweise auch bei Kontrolltieren zu beobachten. Da es durch die Narkose und sonstigen Manipulationen zu einer vorübergehenden Erregung der Tiere kommt, mögen sie zum Teil dadurch bedingt sein, zum Teil könnte es sich dabei auch um Verletzungsfolgen handeln. Die Akinese der Versuchstiere kann mit dem Höhepunkt der Temperaturkurve zusammenfallen, sie kann auch zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen. Ein Tier, das eine Infektion mit *S. marcescens* überlebte, zeigte ebenfalls eine typische Temperaturerhöhung, die jedoch maximal lediglich  $2,1^\circ\text{C}$  betrug. Später kam es bei dem Tier wieder zu einer Normalisierung der Temperatur. Die in der Figur wiedergegebenen Temperaturkurven scheinen den von uns bereits in unseren Vorsuchen beobachteten akuteren Verlauf der durch *Ps. aeruginosa* verursachten Bakteriose im Vergleich zu der von *S. marcescens* hervorgerufenen zu bestätigen<sup>9</sup>.

**Summary.** It is shown that two bacterial diseases of *Periplaneta americana* are accompanied by a significant increase of body temperature of the insect.

S. SAUERLÄNDER und F. KÖHLER

Institut für Angewandte Zoologie der Universität Würzburg, (Deutschland), 24. April 1961.

<sup>9</sup> Die verwendeten Bakterienstämme verdanken wir Herrn Prof. Dr. DIMMLING vom Institut für Hygiene und Mikrobiologie der hiesigen Universität und Herrn Dr. O. LYSENKO vom Laboratory of Insect Pathology, Prag.

mixture contained 100  $\mu\text{l}$  0.01 M substrate in 0.1 M Tris-HCl buffer of pH 8.5, 100  $\mu\text{l}$   $2 \times 10^{-3}$  M solution of  $\text{MnSO}_4$  and 10  $\mu\text{l}$  of enzyme solution. After incubation at  $37^\circ$  for 60 min, the reaction was stopped by adding 2.8 ml of 0.1 N NaOH. The precipitate, if any, was centrifuged, and extinction of  $\beta$ -nitrophenol split off was determined at 400  $\text{m}\mu$  with the Uvispec spectrophotometer (Hilger Co., London). Enzyme activity was expressed in  $\mu\text{M}$  of  $\beta$ -nitrophenol split off by 1 ml of enzyme solution at  $37^\circ$  during 60 min.

<sup>1</sup> W. OSTROWSKI and Z. WALCZAK, Acta biochim. Polon., in press.

<sup>2</sup> R. L. SINSHEIMER and J. F. KOERNER, J. biol. Chem. 198, 293 (1952).

## Phosphodiesterase from *Thiobacillus thioparus*

During studies of the nucleolytic enzymes in extract of the autotrophic bacteria *Th. thioparus*, on the basis of identification of the products of hydrolysis of yeast ribonucleic acid (RNA) and other observations, the presence of at least three different enzymes was established, *viz.* 5'-nucleotidase, phosphodiesterase and ribonuclease. Ribonuclease was isolated and its properties partly investigated<sup>1</sup>. In the present paper some properties of phosphodiesterase, which was separated from ribonuclease and partly purified, are reported.

Phosphodiesterase activity was determined, using Ca-[bis( $\beta$ -nitrophenyl)-phosphate]<sub>2</sub> as substrate<sup>2</sup>. The reaction