

ethanol. Transamination of cysteine to  $\beta$ -mercaptopropruvic acid, a reaction hitherto not reported in yeast, could provide a link in an anaerobic reductive fermentation pathway of this amino acid to mercaptoethanol.

**Zusammenfassung.** Hefeextrakt decarboxyliert  $\beta$ -Mercaptobrenztraubensäure zu 2-Mercaptoazetaldehyd, welches von DPNH und Alkohol-Dehydrogenase zu 2-Mer-

captoethanol reduziert wird. Enzymatische und chemische Messungen bestätigen den Reaktionsmechanismus.

E. KUN and H. G. WILLIAMS-ASHMAN<sup>14</sup>

Departments of Pharmacology and Biochemistry, The University of California, School of Medicine, San Francisco (California USA), January 9, 1962.

<sup>14</sup> Present address: The Ben May Laboratory for Cancer Research, University of Chicago (Illinois, USA).

### Thiamine Diphosphatase in Thiamine Deficiency

Thiamine diphosphatase dephosphorylates cocarboxylase which is thiamine diphosphate. In chickens rendered thiamine deficient, there is a significant increase in the activity of thiamine diphosphatase.

Figure 1 shows the values found for the rate of liberation of inorganic phosphate in  $\mu$ moles/g tissue/h. The mean enzyme activity was found to be 43.0 units for the healthy tissues of control birds on a normal diet, and 60.6 for the pathological tissues of thiamine deficient birds on a specially constructed diet on which normality could be maintained by supplements of thiamine only.

These figures show a *P*-value of the difference of means at less than 0.05. The increase in activity of thiamine diphosphatase in thiamine deficient chicken brain is significant.

Figures 2 and 3 give the results of experiments on the thiaminediphosphatase content and change in weight of chickens on a basal diet with and without thiamine.

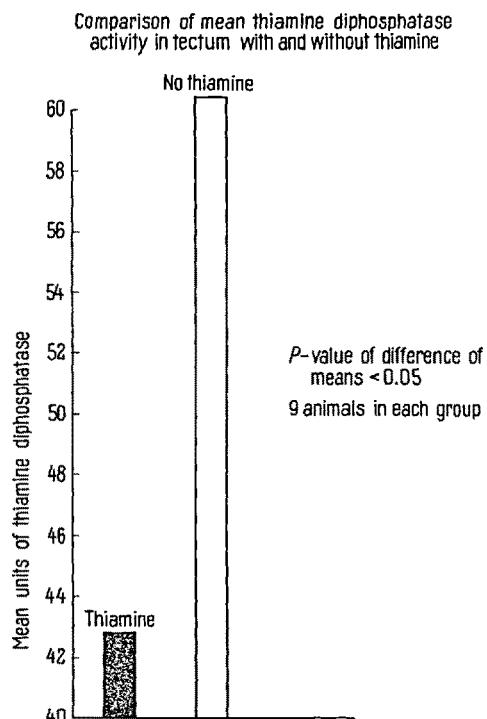


Fig. 1

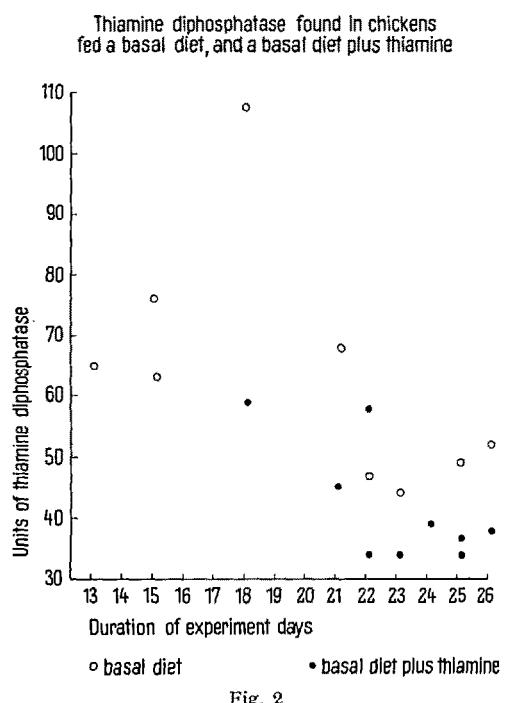


Fig. 2

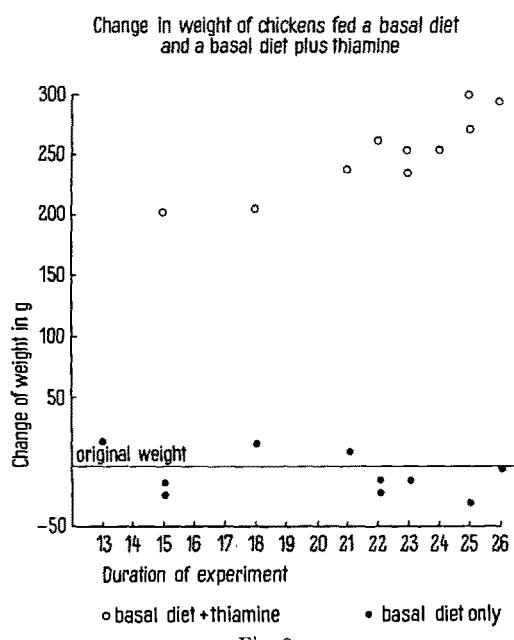


Fig. 3

**Zusammenfassung.** In Thiamin-Mangelküken wurde eine erhöhte Thiamin-Diphosphatase-Aktivität festgestellt. In Figur 1 sind die Mengen an freigesetztem anorganischem Phosphat in  $\mu\text{Mol/g}$  Gewebe/h angegeben. Die Normalwerte betragen durchschnittlich 43,0 Einheiten, während das pathologische Gewebe bis zu 60 Einheiten enthält. Die Unterschiede sind signifikant,

$P < 0,05$ . Der Effekt kann durch Zusatz von Thiamin zum Futter aufgehoben werden.

D. NAIDOO

Department of Clinical Research, Ontario Hospital, Toronto (Canada), March 5, 1962.

### Gibt es peptisch-tryptische Abbaustufen des Gliadins mit Antigencharakter?

Die im Titel gestellte Frage haben wir in einer früheren Arbeit verneint<sup>1</sup>. Wir hatten festgestellt, dass nach peptisch-tryptischem Abbau des Gliadins, nach Inaktivierung der Enzyme und anschliessender Ultrafiltration des Verdauungsgemisches dieses nicht mehr mit Antiserum gegen Gliadin im Komplementbindungsversuch reagierte. Der enzymatische Abbau des Gliadins allein ohne folgende Ultrafiltration führte zu einer beträchtlichen Abschwächung der Reaktion, aber nicht zu Nullwerten. Ein Restbetrag an Gliadin war bei positiven Reaktionen also stets vorhanden.

Kürzlich haben TAYLOR et al.<sup>2</sup> jedoch angegeben, dass sie mit der Methode der Hämagglutination positive serologische Reaktionen mit einem Produkt aus Gluten erhielten, das von FRAZER et al.<sup>3</sup> als Fraktion 3 bezeichnet wird. Bekanntlich enthält Gluten etwa 50–60% Gliadin, so dass die Befunde Taylors auch mit einem Antigliadinserum geprüft werden können.

Fraktion 3 wird aus Gluten durch peptisch-tryptische Verdauung gewonnen, worauf die Lösung auf pH 4,5 gebracht wird. Die bei dieser Reaktion entstehende Fällung wird entfernt, der lösliche Anteil zur serologischen Prüfung verwendet. Die Frage, ob die durch ihn bewirkten serologischen Reaktionen durch Reste des Glutens oder durch Abbauprodukte bewirkt waren, wurde durch die genannten Autoren<sup>2</sup> nicht weiter verfolgt. Wir haben diese Frage deshalb erneut bearbeitet, gleichzeitig machten wir Parallelversuche mit Gliadin als Ausgangsmaterial.

**Methodik.** Gluten und Gliadin waren Handelspräparate. Letzteres wurde zur Entfernung von Lipiden vor der Verarbeitung mit Alkohol-Äther behandelt. Die Lösung des Gliadins wurde so bewerkstelligt, dass zu 98 ml von 70% Alkohol 2 ml 0,1*n* NaOH zugefügt wurden. Hierin wurde das Gliadin (z. B. 0,5 g) gelöst (37°, häufiges Umschütteln). Nach völliger Lösung wurde der Alkohol bei verminderter Druck bei 40°C abdestilliert. Der verbleibende Rest wird mit destilliertem Wasser auf das gewünschte Volumen gebracht, womit die Stammlösung für die Versuche gewonnen ist. Sie ist bei 4°C ohne Zusätze einige Tage haltbar. Schwache Trübungen können durch etwas NaOH und Erwärmung wieder beseitigt werden. Die Verdünnungsansätze mit Kochsalzlösung sind instabil, indem unter zunehmender Trübung allmählich eine Fällung des Gliadins durch die Chlorionen erfolgt. Diese Verdünnungen müssen also sofort verarbeitet werden.

Zu den Komplementbindungsversuchen sei bemerkt, dass die Verdauung zu Produkten mit antikomplementären Eigenschaften führen kann. Es ist deshalb eine Titerierung des Komplements für jeden Ansatz erforderlich.

Unsere Resultate geben wir in der Tabelle wieder.

Das Ergebnis der Versuche ist eindeutig. Der lösliche Anteil der Verdauungsgemische nach Ausfällung bei

Geprüfte Lösung	Titer im Komplementbindungsversuch mit Antigliadinserum vom Kaninchen
1. Gliadin 500 mg%	1:> 59000
2. 67 mg%	1:2187
3. Gluten 1% pept.-trypt. verdaut, bei pH 4,5 ausgefällt, löslicher Anteil neutralisiert	1:59000 (bzw. 1:81 infolge Nachlösung)
4. Gliadin 1%, ebenso behandelt	1:27 (bzw. 1:9 infolge Nachlösung)
5. wie 3., dann bei pH 4,4 autoklaviert	1:81
6. wie 4., dann bei pH 4,5 autoklaviert	1:81
7. wie 5., dann ultrafiltriert, Filtrat	0
8. wie 6., dann ultrafiltriert, Filtrat	0
9. Filterrückstand von 7.	1:81
10. Filterrückstand von 8.	1:81

pH 4,5 und Renerualisierung ergibt positive Komplementbindung, enthält also noch Antigen. Dieser Rest übersteht sogar das Autoklavieren bei saurer Reaktion. Da von uns in früheren Versuchen gezeigt worden war<sup>4</sup>, dass Autoklavieren bei alkalischer Reaktion zum Verlust der Antigenbindungsähnlichkeit führt, haben wir solche Versuche nicht nochmals wiederholt. Autoklavieren bei pH 7,8 lässt einen Gliadines übrig. Die Ultrafiltration zeigt, dass am positiven Ausfall von Versuch 5 und 6 das Ultrafiltrat unbeteiligt ist, das heisst, dass die das Ultrafilter passierenden Abbaustufen nicht mehr fähig sind, Komplement zu binden. Dagegen ist der Rückstand auf dem Filter, wenn er im gleichen Volumen wieder gelöst wird, noch voll aktiv, er stellt also das Antigen dar.

Damit ist die eingangs gestellte Frage, ob peptisch-tryptische Abbaustufen des Gliadins, welche in der so genannten Fraktion 3 vorhanden sind, Antigencharakter haben, in dem Sinne beantwortet, dass dies nicht der Fall ist, sobald diese Substanzen durch Ultrafiltration abgetrennt werden. Geschieht dies nicht, dann treten die Eigenschaften eines Antigens hervor, weil Reste von Gliadin vorhanden sind.

**Summary.** Peptic and tryptic digestion of gluten and gliadin leaves a part of the substrates unaltered after precipitation at pH 4.5. Complement fixation test of the

<sup>1</sup> E. BERGER und E. FREUDENBERG, Annales Päd. 196, 238 (1961).

<sup>2</sup> K. B. TAYLOR, D. L. THOMSON, S. L. TRUELOVE und R. WRIGHT, Brit. Med. J. 1961, 1727.

<sup>3</sup> A. C. FRAZER, R. F. FLETCHER, C. A. ROSS, B. SHAW, H. G. SIMMONS und R. SCHNEIDER, Lancet 1959 II, 252.

<sup>4</sup> E. FREUDENBERG, Ann. Päd. 197, 400 (1961).