

stable nature of that RNA. Further evidence is also adduced from the fact that Actinomycin D cannot reduce appreciably the ribosomal RNA synthesis in chloroplast (unpublished). As regards to the inhibition of phenylalanine incorporation by grana, it seems that after disruption of the chloroplasts RNase activity increases by at least tenfold. It is apparent from this study that chloroplast has ribosomal aggregates and follows the same coding principle in protein synthesis<sup>15</sup>.

**Zusammenfassung.** Partikel mit Ribonucleoprotein aus Spinatchloroplasten wurden isoliert und als wahrscheinliche Loci der Proteinsynthese bestimmt. Nach Chloroplastenaufschluss hemmte die Granafraktion mit hoher Ribonucleaseaktivität den Aminosäureneinbau. Der Ein-

bau von Phenylalanin wird durch Polyuridylsäure gefördert und durch Polyadenylsäure nur nach Vorbehandlung der Ribosomen-Aggregate mit Ribonuclease gehemmt.

SUSWETA BISWAS and B. B. BISWAS

Radiochemical Laboratory, Bose Institute,  
Calcutta (India), December 18, 1964.

<sup>15</sup> Thanks are due to Dr. D. M. BOSE, Director, and Dr. P. K. BOSE, Joint Director of Bose Institute, for their encouragement during the progress of this work. Our gratitude is conveyed to Dr. A. SEN, Head of the Department of Chemistry, for the sedimentation data.

### Über den Einfluss einiger oberflächenaktiver Substanzen auf den Einbau freier Fettsäuren in die Lipoide des Rattenpankreas in vitro

Im Rahmen von Untersuchungen über funktionelle Zusammenhänge zwischen Lipoidstoffwechsel und Zymogengranulaausschüttung nach Sekretingaben wurde in vitro am Rattenpankreas folgende interessante Beobachtung gemacht: In mehreren reproduzierbaren Versuchsreihen, von denen eine in der Tabelle wiedergegeben ist, konnte die Aufnahme freier Fettsäuren (FFS) in die Lipoide des Pankreas durch Zugabe von oberflächenaktiven Substanzen zum Inkubationsmedium beeinflusst werden. Die Ladung der oberflächenaktiven Substanzen war dabei von Bedeutung. Die ungeladenen Tergitol, Saccharosemonopalmitat, Rindergehirncerebrosid und Vitamin A und das schwach saure Colamin-Kephalin zeigten keinen oder nur geringen Einfluss auf die Aufnahme von FFS in das Pankreas. Jedoch erhöhten das positiv geladene Adogen 401, eine quartäre Ammoniumbase mit langer hydrophober Kohlenwasserstoffkette und das negativ geladene Laurylsulfat die Fraktion der zellulär gebundenen, d.h. mit Kochsalzlösung nicht entfernbaren FFS um das Vielfache. Es wurde nicht untersucht,

Der Einfluss von oberflächenaktiven Substanzen auf die Aufnahme von  $H^3$ -Palmitinsäure in die Pankreaslipoide

Zusätze	dpm Freie Fettsäuren	dpm/mg Neutral- lipoide	dpm/mg Phosphatide
Leerwert	375	591	444
Tergitol	612	462	291
Vitamin A	405	297	300
Saccharosemonopalmitat	384	555	531
Cerebrosid	222	351	378
Colamin-Kephalin	417	449	446
Adogen 401	2823	471	428
Laurylsulfat	3310	2678	312
Heparin	417	561	387

Die Tabelle zeigt die Verteilung der Radioaktivitäten auf die verschiedenen Lipoidfraktionen. Jeweils 2 Rattenpankreas wurden in  $H^3$ -Palmitinsäure enthaltenden Albuminphosphatpuffern  $\pm$  oberflächenaktiver Substanz 30 min bei 37°C unter leichtem Schütteln aerobisch inkubiert.

ob die FFS nur an der äusseren Zelloberfläche adsorbiert waren oder bereits dem intrazellulären FFS-Pool angehörten. Im Gegensatz zum Adogen 401 erhöhte das Laurylsulfat zusätzlich den Einbau von FFS in die Neutrallipoide auf etwa das Fünffache. Keine der getesteten oberflächenaktiven Substanzen hatte eine stimulierende Wirkung auf den Einbau von FFS in die Glycerinphosphatide. Wegen seiner sauren Ladung wurde Heparin, das nicht zu den oberflächenaktiven Substanzen gezählt werden kann, unter den gleichen Versuchsbedingungen getestet. Heparin zeigte dabei keinen Einfluss auf den FFS-Einbau.

Die Erklärung dieser Befunde kann nur hypothetischer Art sein und geht von der Voraussetzung aus, dass oberflächenaktive Substanzen zellulär gebunden werden müssen, um zur Wirkung zu kommen. Für eine solche Bindung sind die zellulären Mucopolysaccharide, Proteine und Lipoproteide in Betracht zu ziehen. Die Bindung kann dabei direkt oder über polyvalente Ionen erfolgen. Wahrscheinlich können die ungeladenen oberflächenaktiven Substanzen im Gegensatz zu den geladenen nur schwer mit der Zelle in Wechselbeziehungen treten, was ihren geringen Einfluss auf die Aufnahme von FFS erklären würde. Dagegen wird das positiv geladene Adogen 401 vermutlich leicht an die Zelloberfläche adsorbiert und scheint dabei FFS zu binden, ohne deren Einbau in die Neutralfette oder Glycerinphosphatide zu beeinflussen. Die stimulierende Wirkung des negativen Laurylsulfats auf den Einbau von FFS in die Neutrallipoide weist auf eine Förderung der FFS-Penetration hin. Diese Verbesserung der Penetration kann durch eine teilweise Auflösung von Lipoidmembranen, wie sie von NERMUT<sup>1</sup> elektronenmikroskopisch an den Oberflächenmembranen von Penicillinspheroplasten in Gegenwart von Laurylsulfat beobachtet wurde, verursacht oder zumindest gefördert worden sein. Derartige Auflösungen von zellulären Membranstrukturen durch oberflächenaktive Substanzen sind ein allgemein bekanntes Phänomen und wurden vor allem bei Mikroorganismen<sup>2,3</sup>, Erythrocyten<sup>4,5</sup> und sub-

<sup>1</sup> M. V. NERMUT, Exper. 20, 318 (1964).

<sup>2</sup> S. RAZIN und M. ARGAMAN, J. gen. Microbiol. 30, 155 (1963).

<sup>3</sup> A. BOLLE und E. KELLENBERGER, Schweiz. Z. Path. Bakt. 21, 714 (1958).

<sup>4</sup> G. MAIER, Helv. med. Acta 14, 470 (1947).

<sup>5</sup> F. JUNG, VII. Freiburger Symposium (Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961).

zellulären Partikeln<sup>6</sup> in mannigfacher Weise genutzt. Die Unbeeinflussbarkeit des Einbaues von FFS in die Glycerinphosphatide bei Zugabe von Laurylsulfat lässt sich nur schwer erklären und weist auf die Komplexität der Vorgänge hin.

*Durchführung der Experimente.* Jeweils 2 Rattenpankreas (ausgewachsene Ratten vom Sprague Dawley Stamm), frisch entnommen nach Dekapitierung, wurden in einer mit 0,9% Kochsalzlösung gefüllten Petrischale ausbreitert und das anhaftende Fettgewebe sorgfältig entfernt. Innerhalb von Minuten nach Tötung der Tiere wurde mit der Inkubation begonnen. Sämtliche Ansätze wurden 30 min bei 37°C unter leichtem Schütteln aerobisch inkubiert. Das Inkubationsmedium des Leerwertes bestand aus 4 ml 2,5% Rinderalbumin-M/10 Na-Phosphatpuffer (pH 7,4), zu dem 10<sup>6</sup> dpm 9,10 H<sup>3</sup>-Palmitinsäure<sup>7</sup> als K-Salz zugegeben wurden. Die Ansätze mit den oberflächenaktiven Substanzen wurden hergestellt durch Mischen von 2 ml 5,0% Albumin-M/10 Na-Phosphatpuffer mit 2 ml Na-Phosphatpuffer-0,5% oberflächenaktiver Substanz. Die Endkonzentrationen der oberflächenaktiven Substanzen entsprachen 0,25%. Folgende Substanzen wurden getestet: (1) Tergitol<sup>8</sup>, (2) Vitamin A in wasserlöslicher Form (50 mg/Ansatz), (3) Adogen 401<sup>9</sup>, (4) Colamin-Kephalin(Rinderleber)-5% Cholesterin, (5) Cerebrosid (Rindergehirn), (6) Saccharosemonopalmitat<sup>10</sup>, (7) Laurylsulfat und (8) Heparin (5 mg/Ansatz). Die Adogenlösungen wurden wegen ihrer Unbeständigkeit nur frisch verwendet. Die Mizellaren Lösungen der Cerebroside und des Colamin-Kephalins wurden durch 15 h Schütteln der Substanzen in Phosphatpuffer über Stickstoff bei 37°C erhalten.

Nach der Inkubation wurden die Pankreasstücke sorgfältig mehrfach in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschliessend die Lipoide in Chloroform-Methanol (2:1, v/v) extrahiert. Die Gesamtlipole wurden säulenchromatographisch nach HIRSCH und AHRENS<sup>11</sup> in

Neutralfette + FFS und Phosphatide aufgetrennt. Die FFS wurden an MgO-Celite nach BORGSTROEM<sup>12</sup> adsorbiert und deren Radioaktivität nach dem Differenzverfahren ermittelt. Die quantitative Bestimmung der Neutralfette, die im wesentlichen aus Triglyceriden bestanden, erfolgte gravimetrisch und die der Phosphatide nach STEWART und HENDRY<sup>13</sup>. Die Radioaktivitäten wurden nach dem Standardverfahren in Toluol mit dem 'Tricarb-Scintillation counter Model E'<sup>14</sup> gemessen<sup>15</sup>.

*Summary.* Non-ionic surfactants showed minor effects on the uptake of H<sup>3</sup>-palmitic acid into the lipids of rat pancreas *in vitro*. In the presence of the cationic and anionic surfactants tested, the fraction of free H<sup>3</sup>-palmitic acid bound by the tissue increased. Only the anionic laurylsulfate, however, stimulated the uptake of H<sup>3</sup>-palmitic acid into neutral lipids without stimulating its uptake into phospholipids.

K.OETTE

*Physiologisch-chemisches Institut der Universität Köln (Deutschland), 26. November 1964.*

- <sup>6</sup> D. J. HANAHAN, F. R. N. GURD und I. ZABIN, *Lipid Chemistry* (John Wiley & Sons Inc., New York-London 1960).  
<sup>7</sup> New England Nuclear Corporation, Boston (Mass.).  
<sup>8</sup> Union Carbide Chemicals Co., New York 17 (USA).  
<sup>9</sup> Archer Daniels Midland Co., New York 7 (USA).  
<sup>10</sup> Sucro-Chemical Division, Colonial Sugars Co., Gramercy (La. USA).  
<sup>11</sup> J. HIRSCH und E. H. AHRENS JR., *J. biol. Chem.* 233, 311 (1958).  
<sup>12</sup> B. BORGSTROEM, *Acta physiol. scand.* 25, 11 (1952).  
<sup>13</sup> C. P. STEWART und E. B. HENDRY, *Biochem. J.* 29, 1683 (1935).  
<sup>14</sup> Packard Instrument Co., Inc., La Grange (Ill. USA).  
<sup>15</sup> Die Experimente wurden durchgeführt am Rockefeller Institute, A Graduate University and Research Center, New York 21.

## Etude comparée de la composition en oses et en amino-acides de la transferrine et de la lactotransferrine humaines<sup>1</sup>

La *lactotransferrine* (ou lactosidérophiline) humaine est un ferro-glycoprotéide du lait de Femme dont l'existence fut pressentie par SCHÄFER et al.<sup>2-5</sup> et par JOHANSSON<sup>6,7</sup>. Il fut isolé simultanément par MONTREUIL et al.<sup>8,9</sup> et par JOHANSSON<sup>10</sup>. Ultérieurement, d'autres méthodes de préparation furent proposées par GRÜTTNER, SCHÄFER et SCHRÖTER<sup>11</sup>, puis par BLANC et ISLIKER<sup>12</sup>. Ses propriétés physico-chimiques ont été décrites par MONTREUIL et al.<sup>8,9</sup>, puis par BLANC et ISLIKER<sup>12</sup>. Sa composition détaillée en oses et en acides aminés, ainsi que la nature de l'acide aminé N-terminal, ont été précisées pour la première fois par MONTREUIL et al.<sup>13</sup>. Récemment, BLANC, BUIJARD et MAURON<sup>14</sup> ont étudié comparativement la composition en acides aminés de la lactotransferrine du lait de Femme et de la «protéine rouge» du lait de Vache (GROVES et al.<sup>15</sup>).

Nous avons repris nos travaux sur des échantillons de lactotransferrine isolée selon notre procédé original<sup>8,9</sup> et purifiée sur DEAE-cellulose ou préparée par une nouvelle méthode<sup>16</sup> (précipitation de la majeure partie des pro-

- <sup>1</sup> Ce travail a été réalisé grâce à une subvention de la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (Contrat 61-FR-170) à laquelle nous adressons nos plus vifs remerciements.  
<sup>2</sup> K. H. SCHÄFER, *Mscr. Kinderheilk.* 99, 69 (1951).  
<sup>3</sup> K. H. SCHÄFER, M. A. BREYER et H. KARTE, *Z. Kinderheilk.* 76, 501 (1955).  
<sup>4</sup> K. H. SCHÄFER, A. M. BREYER, W. HORST, H. KARTE et W. LENZ, *Klin. Wschr.* 34, 300 (1956).  
<sup>5</sup> K. H. SCHÄFER, *V. Kongress der europäischen Gesellschaft für Hämatologie*, Freiburg (1956), p. 154.  
<sup>6</sup> B. JOHANSSON, *Acta chem. scand.* 8, 1103 (1954).  
<sup>7</sup> B. JOHANSSON, *Nature* 181, 996 (1958).  
<sup>8</sup> J. MONTREUIL et S. MULLET, *C. R. Acad. Sci.* 250, 1736 (1960).  
<sup>9</sup> J. MONTREUIL, J. TONNELAT et S. MULLET, *Biochim. biophys. Acta* 45, 413 (1960).  
<sup>10</sup> B. JOHANSSON, *Acta chem. scand.* 14, 510 (1960).  
<sup>11</sup> R. GRÜTTNER, K. H. SCHÄFER et W. SCHRÖTER, *Klin. Wschr.* 38, 1162 (1960).  
<sup>12</sup> B. BLANC et H. ISLIKER, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 19, C13 (1961); *Bull. Soc. Chim. biol.* 43, 929 (1961).  
<sup>13</sup> J. MONTREUIL, G. BISERTE, S. MULLET, G. SPIK et N. LEROY, *C. R. Acad. Sci.* 252, 4065 (1961).  
<sup>14</sup> B. BLANC, E. BUIJARD et J. MAURON, *Exper.* 19, 299 (1963).  
<sup>15</sup> M. L. GROVES, *J. Am. chem. Soc.* 82, 3345 (1960).  
<sup>16</sup> J. MONTREUIL, N. ANTONY, J. DESCAMPS et N. DUQUESNE, *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* 3, n° h.s., 129 (1963).