

weight. There is, however, no obvious correlation between the 2 effects, and presence or availability of the eosinophils seem to be no prerequisite for the response in total weight of the mouse uterus to the long-acting oestrogen. The slightly elevated peroxidase activity in the metothrexate group was unexpected and is difficult to explain unless it is a random effect. Oestradiol is known to protect hematopoiesis against metothrexate⁸.

The liver catalase was chosen as representing an organ with a marked ability for regeneration, being a hydroperoxidase itself. The catalase activities were reduced in the mercaptopurine and fluorouracil groups, but with no obvious correlation to the other 2 parameters. The normal value with aminotriazol may be accounted for by the duration of the experiment.

DNA-P and RNA-P for the saline group were found as 2.3 and 3.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ dry weight. No group showed significant deviations, the ranges being 2.0–2.7 (means 2.4 ± 0.2) and 3.0–3.7 (means 3.3 ± 0.2) respectively⁹.

Zusammenfassung. Bei kastrierten, weiblichen Mäusen, die verschiedene Cytostatica zusammen mit einem lang-

wirkenden Oestrogen erhielten, wurde Gewichtszunahme und Eosinophilie des Uterus nach 11 Tagen gemessen. Zwischen den beiden Wirkungen bestanden offensichtlich keine Beziehungen. Das DNA/RNA Verhältnis blieb unverändert.

K. G. PAUL, A. KUMLIEN,
and S. BRODY

Department of Medical Chemistry, University of Umea,
and Department of Obstetrics and Gynaecology,
University of Gothenburg (Sweden),
July 18, 1966.

⁸ A. GOLDIN, E. M. GREENSPAN, B. GOLDBERG, and E. B. SCHOENBACH, Cancer 3, 849 (1950).

⁹ Acknowledgment: This investigation was supported by Statens medicinska forskningsråd and Svenska nationalföreningen mot hjärt- och lungsjukdomar.

Die Induktion lysogener Bakterien durch Nitrosamide

Im Rahmen von Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Cancerogenese und Lysogenie hatten wir früher die Wirkung der sehr aktiven Cancerogene Dimethylnitrosamin und Diäthylnitrosamin geprüft¹. Beide Substanzen vermochten *Escherichia coli* K12 (λ)-Zellen nicht

zu induzieren und erwiesen sich bei *Serratia marcescens* – wie auch bei *Neurospora crassa*² – als nicht mutagen. Wir führten dies darauf zurück, dass in Mikroorganismen Diazoalkan bzw. Carbonium-Ionen als die eigentliche alkylierende «Wirkform» der Nitrosamine, die für die toxische und mutagene Wirkung dieser Substanzen beispielsweise bei *Drosophila melanogaster*³ verantwortlich sind, mangels entsprechender Enzyme nicht gebildet wird.

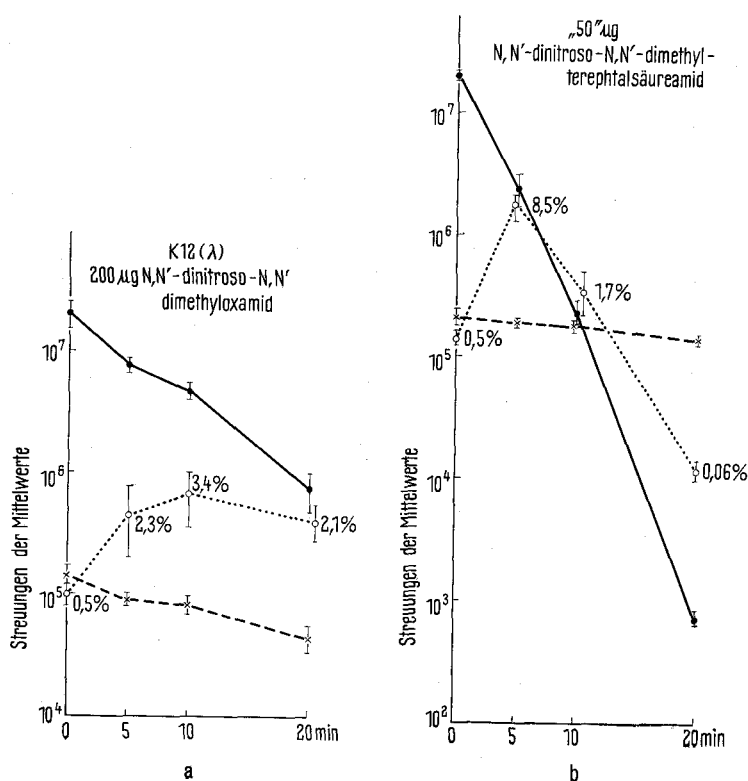


Fig. (a) und (b). Die Wirkung von N,N'-dinitroso-N,N'-dimethyl-oxamid (DDO) (a) und N,N'-dinitroso-N,N'-dimethylterephthalsäureamid (NMT) (b) auf *Escherichia coli* K12 (λ)-Populationen in semisynthetischem (SS-) Medium. Von NMT waren 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ eingewogen worden, wurden aber nicht vollständig gelöst. Mittelwerte aus 6 (a) bzw. 4 (b) Versuchen. ●—● = lysogene Bakterien (Koloniebildner), x-----x = freie λ -Phagen, o.....o = induzierte Bakterien (Plaques-Bildner).

Nachdem nun von MARQUARDT et al.⁴ gezeigt wurde, dass die Nitrosamide N,N'-dinitroso-N,N'-dimethyloxamid (DDO) und N,N'-dinitroso-N,N'-dimethylterephthalsäureamid (NMT) bei *Saccharomyces cerevisiae* mutagen wirken, untersuchten wir⁵, ob diese Substanzen – die ohne enzymatischen Anstoss hydrolytisch in Diazoalkan überführt werden – *E. coli* K12 (λ)-Zellen induzieren.

Beide Substanzen inaktivieren die behandelten lysogenen Zellen stark (Figur (a) und (b)), während der Titer der freien Phagen nur geringfügig abnimmt, so dass in erster Linie eine Wirkung intrazellulär entstandenen Diazomethans angenommen werden kann. Beide Amide induzieren, aber jeweils nur relativ geringe Anteile der behandelten Zellen. Dies ist zumindest aus den Versuchen mit DDO offensichtlich. Immerhin ist die Tatsache bedeutsam, dass DDO überhaupt induziert, obwohl es – wie wir nach Abschluss unserer Versuche erfuhren – bei Hefe beim pH 7 nur im Temperaturbereich unter 25 °C mutagen wirkt^{6,7}. Der Verlauf der mit NMT erhaltenen Induktionskurve schliesst nicht aus, dass in den ersten Minuten zunächst mehr als 8,5% der Zellen induziert, dann aber zunehmend inaktiviert werden.

Unsere Befunde können nicht zur Diskussion über die Beziehungen zwischen cancerogener und induzierender Aktivität herangezogen werden, da DDO bei Ratten kaum cancerogen ist und NMT in dieser Hinsicht zumindest von DRUCKREY et al.⁸ noch nicht geprüft wurde. Unsere Befunde stützen aber die oben geäußerte Ansicht, dass die Unempfindlichkeit lysogener Zellen gegenüber Nitrosaminen auf einen Mangel an dealkylierenden En-

zymen zurückzuführen sein dürfte und nicht auf eine Resistenz gegenüber Diazoalkanen⁹.

Summary. N,N'-dinitroso-N,N'-dimethyloxamide and N,N'-dinitroso-N,N'-dimethylterephthal acid amide, both mutagenic for yeast cells, induce phage production by lysogenic *Escherichia coli* K12 (λ) cells.

G. R. MENZEL und E. GEISSLER¹⁰

Institut für Krebsforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Experimenteller Bereich, Berlin (DDR), 14. März 1966.

¹ E. GEISSLER, *Naturwissenschaften* 49, 380 (1962).

² H. MARQUARDT, R. SCHWAIER und F. K. ZIMMERMANN, *Naturwissenschaften* 50, 135 (1963).

³ L. PASTERNAK, *Naturwissenschaften* 49, 381 (1962).

⁴ H. MARQUARDT, F. K. ZIMMERMANN und R. SCHWAIER, *Z. Vererb. Lehre* 95, 82 (1964).

⁵ Bezüglich methodischer Einzelheiten vgl. E. GEISSLER, *Biochim. biophys. Acta* 114, 116 (1966).

⁶ R. SCHWAIER, F. K. ZIMMERMANN und U. v. LAER, *Z. Vererb. Lehre* 97, 72 (1965).

⁷ H. MARQUARDT, persönliche Mitteilung (1966).

⁸ H. DRUCKREY, persönliche Mitteilung (1966).

⁹ Herrn Prof. H. DRUCKREY, Freiburg i.Br., danken wir für die Überlassung der von Herrn Dr. PREUSSMANN synthetisierten Substanzen.

¹⁰ Neue Anschrift: Institut für Mikrobengenetik, Universitätsplatz 5, 25 Rostock, DDR.

Cystamine Inhibition of Enzyme Induction and Acetate Oxidation in *Pseudomonas aeruginosa* and Reversal by High Salt Concentrations

Cystamine, the disulfide form of 2-mercapto-ethylamine (MEA), inhibits the entry of sodium ions into cells of a strain of *Pseudomonas aeruginosa*¹. The evidence for this consists of the inhibition of cell swelling when washed cells are suspended in sodium phosphate buffer. No inhibition of swelling occurs in potassium phosphate buffer. The percentage inhibition is inversely proportional to the buffer concentration, which suggests a competitive inhibition between sodium ions and cystamine. MEA is inactive. In the absence of sodium ions organic acid substrates are not oxidized by this organism (unpublished observation). It follows, therefore, that cystamine should inhibit the oxidation of such substrates and that the percentage inhibition should depend on the buffer concentration. To test this possibility the following experiments were performed.

A strain of *P. aeruginosa* maintained in this laboratory for 18 years was grown at 34 °C for 24 h in Difco nutrient broth. The cells were spun down and then washed twice with water by centrifugation. They were then suspended in water, adjusted to a standard optical density, and added to Na-K phosphate buffers pH 7.7 of various molarities in Warburg vessels which had a final fluid volume of 2.0 ml. Freshly dissolved MEA, which had been allowed to autoxidize until the nitroprusside test was negative, was added, followed by the substrates. These were Na benzoate, which requires enzyme induction as

shown by the fact that its oxidation is inhibited by streptomycin and other drugs which inhibit protein synthesis, and Na acetate, which is oxidized without a lag phase. An increase in the molarity of the buffer from 0.025–0.1 caused a small increase in the rate of benzoate oxidation and a small decrease in the rate of acetate oxidation.

CLELAND² has shown that dithiothreitol (DTT) reduces S–S linkages and protects –SH groups from oxidation. Table I shows that 15 μ g/ml DTT had no effect on the

Table I. The effect of 10 μ g/ml cystamine. HCl in the presence or absence of 15 μ g/ml DTT on the oxidation of 0.5 mg/ml Na acetate (anhydrous). 0.1 M Na-K phosphate buffer pH 7.7, 37 °C. The figures are μ l O₂ uptake

Time (min)	Control	Cystamine	Inhibition %	Cystamine + DTT	Inhibition %	DTT
30	58	34	38	59	0	57
45	86	55	36	91	0	87
60	116	78	36	121	0	117
75	141	98	30	145	0	142

¹ F. BERNHEIM, *Biochem. Pharmacol.* 15, 1105 (1966).

² W. W. CLELAND, *Biochemistry* 3, 480 (1964).