

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ. — **Beiträge zur Natur der Proteine von Seetieren.** I Mitteilung. Biochemische Untersuchungen über die rote Ei-

weissfäden der Actinie *Adamsia*, von *Anast. A. Christomanos**.

Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Γεωργ. Ἰωακείμογλου.

Die in Symbiose mit den Eisedlerkrebse lebenden Actinien, und zwar der Art *Adamsia Rondeleti*, welche im Euboesischen Meerbusen in einer Tiefe von über 15 Meter zu finden sind (Fig. 1), produzieren wenn gereizt, ein fadenartiges Sekret, welches in der Mehrzahl der Fälle eine rosarote bis violettrote Farbe besitzt. Dieses Sekret wird hauptsächlich aus der Schlundöffnung herausgespritzt, aber auch aus zahlreichen Öffnungen, welche nahe der basalen Anhaftungsscheibe des Actinienkörpers sich befinden, ausgestossen. Nicht alle Actinien produzieren gefärbte Fäden. Manche produzieren weissgelbliche Fäden. Das Verhältnis rot zu weiss war, bei den von mir aufgefisheten Actinien, gleich 4 : 2.

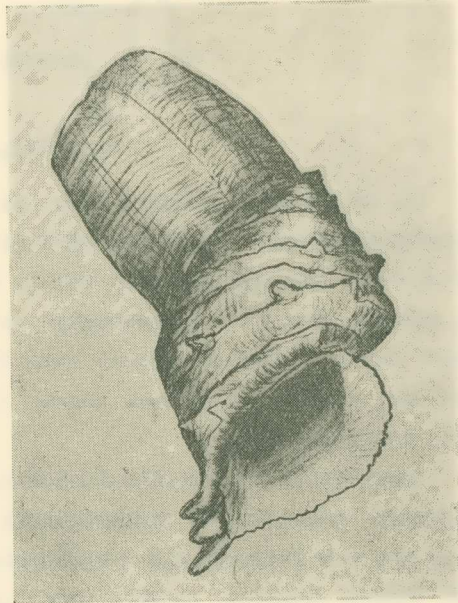


Fig. 1. — Actinie *Adamsia* auf einen Schnecken-
gehaltse.

Die biologische Bedeutung dieser Fäden lässt sich dahingehend zusammenfassen, dass man in ihnen Fang- und Nesselwerkzeuge erblickt, durch die die Actinie¹ ihre Nahrung fängt bzw. lähmt². Es sei darauf aufmerksam gemacht, dass die Angelköder welche von den Actinien verschluckt werden, vollkommen mit diesen Fäden überdeckt sind.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, einesteils das Studium der Na-

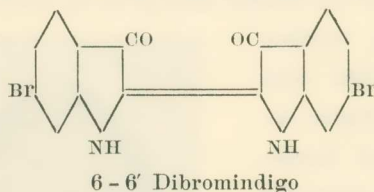
* **ΑΝΑΣΤ. Α. ΧΡΗΣΤΟΜΑΝΟΣ**: Συμβολαί εἰς τὴν μελέτην τῆς φύσεως τῶν πρωτεϊνῶν τῶν θαλασσίων ζῴων. Ἀνακοίνωσις Α'. Βιοχημικαὶ ἔρευναι περὶ τῶν ἐρυθρῶν πρωτεϊνικῶν κλωστῶν τῶν ὀκτινίων *Adamsia*.

¹ *W. Kükenthal*, Hand. der Zoolog. Bd. I S. 770-824. Berlin 1923-1925.

² *Ch. Richet*, Compt. rend. soc. Biol. Vol. 55 Paris 1903.

tur des rotviolettten Farbstoffes der Actinienfäden, anderenteils die Erforschung der Zusammensetzung des Fibrinartigen Eiweisskörpers aus welchen die Fäden aufgebaut sind.

Es ist seit dem Altertum bekannt, dass die Meeresschnecke *Murex Brandaris* in ihrer Hypobranchialdrüse eine farblose Farbstoffvorstufe unbekannter Zusammensetzung führt. Diese Vorstufe wandelt sich bei Belichtung in einen rotviolettten Farbstoff um. Nach Friedländer¹ ist dieser Farbstoff der *Murex Brandaris* als 6-6' Dibromindigo identifiziert worden.



Es ist ebenfalls bekannt dass auch andere Meeresschnecken in ihrer Hypobranchialdrüse ähnliche violettrote Farbstoffe von mehr oder weniger unbekannter Zusammensetzung führen. Im *Murex Trunculus* soll sich noch ein anderer, dem 6-6' Dibromindigo verwandter Farbstoff von mehr rotviolettter Farbe vorfinden, welcher nach Friedländer als ein N-N' Dimethylderivat des ersteren aufgefasst wurde. Diese Hypothese hat sich analytisch nicht beweisen lassen³.

Analysen des Farbstoffes der Schnecken *Purpura Aperta* und *Purpura Lapillus*⁴ haben es sehr wahrscheinlich gemacht, dass es sich bei ihnen um einen vom 6-6' Dibromindigo verschiedenen, aber ihmverwandten Körper handelt. Nähere Angaben werden nicht gemacht. Es liegen auch keine diesbezügliche Spectroskopische Untersuchungen vor. Was den roten bis rotviolettten Actinienfädenfarbstoff anbetrifft, und die Natur der Proteine dieser Fäden, haben wir keine entsprechende Literaturangaben finden können.

M E T H O D I K

Für unsere Versuche wurden die rotviolettten Fäden einer Anzahl von Actinien gesammelt, und in Chloroformhaltigen destilliertem Wasser bei ca

¹ Ber. der. Deut. Chem. Gesel. 1909, S. 765.

² *Murex trunculus*, *Purpura haemostoma*, *Purpura aperta*, aus Mexico, und *Purpura lapillus* aus der Felsenküste des Atlantischen Ozeans.

³ Berichte der Deut. Chem. Gesell. 1909, S. 765.

⁴ *P. Friedländer*, Ber. der Deut. Chem. Gessell. 1922, S. 1655.

3°-5° aufbewahrt. Nach Verlauf einiger Tage geht der Farbstoff in Lösung, und es hiterbleiben, nach zwei bis dreimalige Wasserauslaugung, die nunmehr zusammengeballte weisse entfärbte Fäden zurück.

Der Farbstoff ist dabei mit einem Eiweisskörper von albuminartigen Character verbunden, der mit ihm gleichzeitig in Lösung geht.

Wir konnten vorläufig die Verbindung Farbstoff, Eiweiss nicht trennen, da wie später ausgeführt werden wird, jeder Versuch der Trennung des Albumins bzw. Pseudoglobulins vom Farbstoff, mit einer Entfärbung bzw. Zersetzung des letzteren einherging.

Die wässrige Lösung des Farbstoffes wird nun scharf zentrifugiert, filtriert, und das klare Filtrat mit der viervachen Menge 96% Alkohol bei 5° versetzt. Nach ca 30 Minuten bildet sich ein rotvioletter Niederschlag von flockiger Konsistenz. Er wird durch Zentrifugieren getrennt, in wenig desstilliertem Wasser aufgelöst, und wieder mit Alkohol gefällt. Der resultierende Niederschlag wird zentrifugiert.

Nun wird der Niederschlag in einige cm.³ destilliertem Wasser aufgelöst, und die klare homogene Lösung im Vacuumexicator eingestellt. Nach der vollkommenen Trocknung der Lösung im Vacuum, hinterbleibt ein amorpher gelblichweisser Rückstand, welcher in der freien Luft des Laboratoriums innerhalb weniger Minuten, sofort nach Zusetzen von einigen Tropfen Wasser, die rotviolette Farbe annimmt, um bei erneuerter Trocknung wieder in gelb umzuschlagen. Dieses kann beliebig oft wiederholt¹ werden, und weist darauf hin, dass die Farbänderung mit der Hydratation bzw. mit einer infolge Wasserannahme erfolgenden Umlagerung einer Doppelbindung in Verbindung steht.

Es ist verfrüht eine Beziehung zwischen dieser Erscheinung und der Bildung der rotvioletten Farbe der Actinienfäden aus einer farblosen Vorstufe, in der lebenden Actinie finden zu wollen. Jadenfalls ist kein derartig gefärbtes Sekret in den Zellen der Actinie, nach unseren mikroskopischen Untersuchungen gefunden worden.

Die rotviolette wässrige Lösung des Farbstoffes, die über Monate im Eisschranck aufbewahrt werden kann², zeigt mit U. V. bestrahlt eine inten-

¹ Die Immoniumbasen der Triphenylmethanfarbstoffe zeigen bei Wasserzusatz oder Entziehung, ähnliche Farbänderungen, wobei nur auf die äussere Ähnlichkeit angewiesen werden soll.

² Nach längeren Aufbewahren ist der Farbstoff einmal durch Alkohol gefällt

sive blaue Fluorescenz, und weist ein charakteristisches Absorptionsspectrum im sichtbaren Licht auf, indem ein breites dunkles Absorptionsband bei 5500 Å, und ein viel schwächeres, in verdünnten Lösungen kaum sichtbares, bei ca. 4500 Å erscheinen (Fig. 2). Die genauere Analyse im Spectrographischen

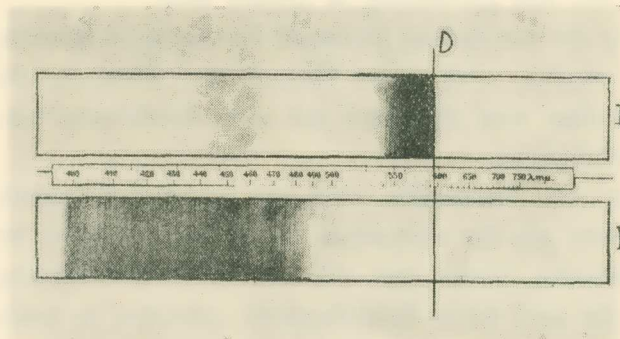


Fig. 2. - I. Absorptionsspectrum des Actinienfarbstoffes.
II. Absorptionsspectrum des erhitzten Actinienfarbstoffes.

Photometer ergab ein Maximum bei 5550, und drei kleinere bei 4650, 4500 und 4350, (Fig. 3). Die von Friedländer¹ angegebene Daten der Absorptionsspectern für 6-6' Dibromindigo nämlich ein Absorptionsband beginnend bei 5960 und bei 5650 endend, mit einem Maximum bei 5850, und für das N-N' Dimethyl-derivat mit einem Maximum bei 6380, sind vollkommen verschieden von denen des Actinienfarbstoffes.

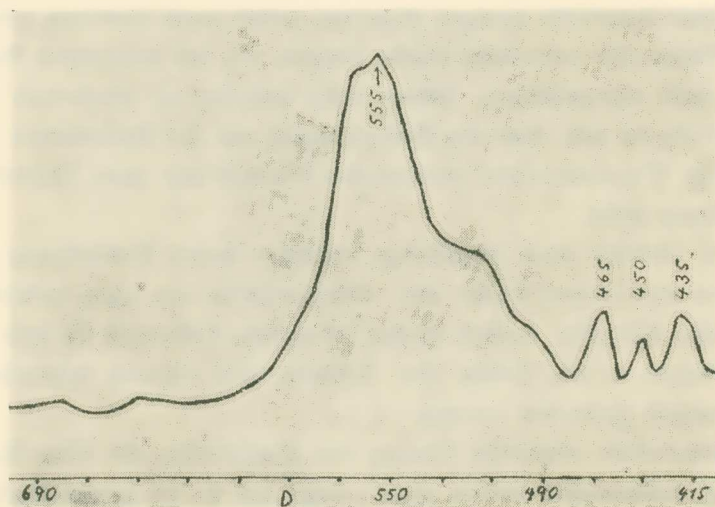


Fig. 3. - Spectrophotometrische Absorptionskurve des Actinienfarbstoffes.

nicht meler in destilliertem H₂O löslich. Ebenso verhält er sich bei der Electrodialyse. bei der der Farbstoff mit dem Eiweiss zum grössten Teil ausfällt.

¹ Der Farbstoff enthält kein Fe und ist nicht CO empfindlich.

Versetzt man die rotviolette Farbstofflösung mit einem Tropfen einer 5% HCl oder einer ebensolcher H₂SO₄ Lösung, so tritt unter Trübung infolge Eiweissaussfällung, eine sofortige vollkommene Entfärbung ein.

Durch verdünnte Alkalien z. B. 1% NaOH oder KOH schlägt die Farbe in Gelb um. Die Gelbfärbung ist bei concentrirten Lösungen stark ausgesprochen. Dagegen wird der rotviolette Farbstoff selbst von conc. NH₃ Lösungen nicht verändert.

Nähere Untersuchungen ergaben, dass die wässrige Lösung des Farbstoffes erst bei ph 2,97 (in einen Citrat/HCl/NaOH Puffergemisch nach Sörensen) eine starke Entfärbung zeigt, die bei ph. 1,92 vollständig wird.

Anderenteils ist der rote Farbstoff noch bei ph 12,36 vollkommen beständig, und schlägt bei hinzusetzen von 1/10 n. NaOH (ph. 12,93) ins Gelbliche um, unter gleichzeitigen bemerkbar werdenden Trimethylaminähnlichen Geruch.

Wird eine wässrige oder eine NH₃ Lösung des Farbstoffes in ein kochendes Wasserbad eingetaucht, so tritt wie beim Alkalizusatz an Stelle der rotvioletten Farbe, eine intensive Gelbe auf, gleichzeitig macht sich wieder der Trimethylamingeruch bemerkbar. Eiweiss fällt dabei flockig aus.

Die nach Alkalisierung oder Erhitzen des Farbstoffes erzeugte gelbe Lösungen zeigen eine vollständige Änderung des Absorptionsspectrums indem das Band 5550 gänzlich verschwindet, und eine starke Absorption vom Violett bis fast zum Grün erscheint, (Fig. 2 unteres Spectrum II).

Es wurden weiterhin orientierende Versuche mittels der Papierchromatographie zur Bestimmung der Eiweissnatur des mit dem Farbstoff gebundenen Proteins, sowie zur Feststellung der Aminosäurezusammensetzung der vom Farbstoff ausgelaugten Actinienfäden durchgeführt.

Zu diesem Zwecke wurde Filtrierpapier Whatman No 4 verwandt. Als erster Auslauf wurde Phenol/Wasser mit NH₃ und KCN gebraucht. Die zweite Dimension wurde mit einem Gemisch von Pyridin/Amylalkohol/Wasser auslaufen, gelassen¹).

¹ Wir konnten die von Edman empfohlene Pyridinmischung (Expos. Annuels Biochim. Medic. Onzième Ser. 1950) nicht als gebrauchsfähig betrachten, da nach dem von Ihm angegebenen Mengeverhältnissen stets eine Entmischung eintritt. Wir gebrauchten mit ausgezeichneten Resultaten folgende Mischung: Pyridin 80, n-Amylalkohol 70, Aethylalkohol 35, und Wasser 60 Teile. Diese Lösung ist in gut schliessenden Flaschen lange haltbar, und weist ein ziemlich gutes Auflösungsvermögen für die Aminosäuren.

Das Chromatogramm der wässrigen Farbstofflösung zeigt das Vorhandensein von Peptiden und einzelnen Aminosäuren unter denen die Glutaminsäure quantitativ, nach der Intensität der Ninhydrinreaction zu urteilen, vorangeht.

Nach Hydrolyse des Farbstoffeiweisskomplexes mit der fünffachen Menge

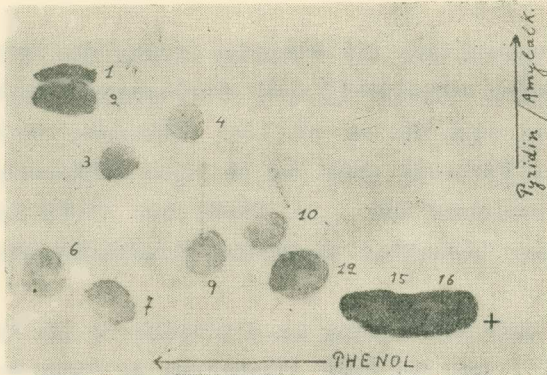


Fig. 4. - Hydrolysat des Albuminfarbstoffkomplexes.

conc. HCl imgeschlossenen Rohr auf 100°, und nach vollständiger Abdampfung der Säure, zeigten die mit diesen Hydrolysat angefertigten Chromatogramme das Vorhandensein, in quantitativ absteigender Folge, die folgenden Aminosäuren (Fig. 4). Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tryptophan, Leucin, Glykokoll, Valin, Tyrosin, Threonin, Alanin, Lysin, Arginin.

Das nach Versetzen der roten wässrigen Farbstofflösung mit C_2H_5OH (siehe oben) entstehendes farbloses alkoholisches Filtrat zeigte chromatogra-

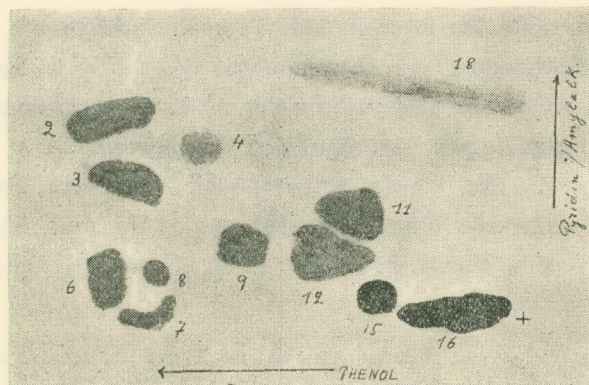


Fig. 5. - Alkoholischer Extract des Actinienfarbstoffes.

phisch in quantitativ absteigender Reihenfolge, folgende Aminosäuren (Fig. 5) Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin, Valin, Arginin, Lysin, Histidin,

Serin, Glykokoll, Alanin, Tyrosin, und Tetramethylammoniumhydroxyd oder Tetramin genannt, welches als Curareartig wirkendes Gift bekannt ist, und von Ackerman zuerst aus den Actinien isoliert wurde. Dieser Befund ist insofern interessant da dadurch die Anwesenheit dieses Actiniengiftes chromatographisch festgestellt wurde.

Das Hydrolysat der vom Farbstoff ausgelagter Actinienfäden ergab chromatographisch folgenden Aminosäuregehalt:

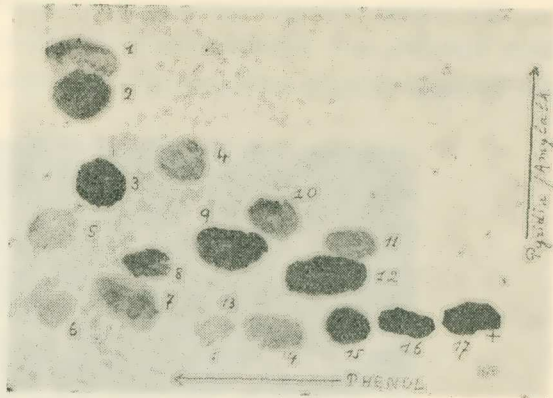


Fig. 6. - Hydrolysat der Proteinsubstanz der roten Actinienfäden.

- | | | |
|---------------|---------------|------------------------|
| 1. Tryptophan | 7. Lysin | 13. Nicht feststellbar |
| 2. Leucin | 8. Histidin | 14. Hydroxylysin? |
| 3. Valin | 9. Alanin | 15. Glutaminsäure |
| 4. Tyrosin | 10. Threonin | 16. Asparaginsäure |
| 5. Prolin | 11. Serin | 17. Cysteinsäure |
| 6. Arginin | 12. Glykokoll | 18. Tetramin |

Cysteinsäure, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glykokoll, Valin, Leucin, Alanin, Histidin, Threonin, Serin, Lysin, Arginin, Prolin, Tyrosin, Tryptophan (Fig. 6), Hydroxylysin, und eine nicht indentifizierte Aminosäure.

Was den Ort der Bildung dieses Fibrinartigen Fadensekretes anbelangt, so sind wir geneigt diejenigen Zellen des hohen cylindrischen Epithels die sich an dem basalen Ende des Actinienkörpers befinden, als die spezifische Productionszellen anzunehmen (Fig. 7).

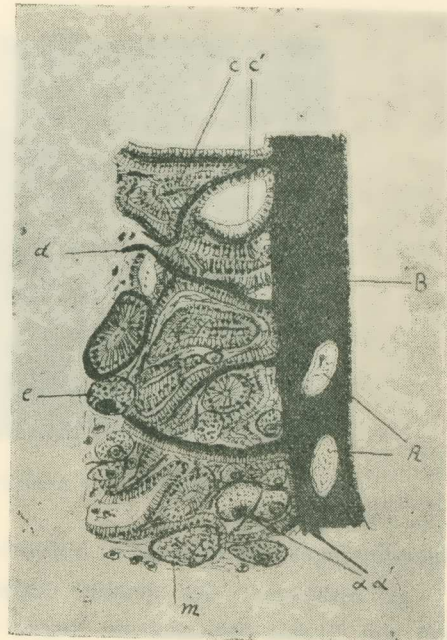


Fig. 7. - B=Bindegewebeartiger Schlauchmantel der Actinie.

- R = Sekretionsröhre mit Fadensek ret.
 a, a', m = Eizellen.
 c, -c' = Drüsengewebe.
 d = Bindegewebsfortsät.

Ideeler Längsschnitt durch einen Actinienkörper.

Wir haben mikrophotographisch feststellen können, das bestimmte Teile dieses Epithels, mit Hämatoxylin/Eosin Färbung, bzw. nach Giemsa, sich stark färbende Granula enthalten (Fig. 8), welche wahrscheinlich die Vorstufe



Fig. 8. - Sekretionszellen enthaltend dunkel gefärbte Granula. (Fadensekret?).

der Proteine des Actinienfadens darstellen. Das sich auf diesem Wege bildende Sekret wird durch Zusammenziehung des Actinienkörpers aus den zwischen den Zellen sich befindende Lumina, und zwar durch Öffnungen am



Fig. 9. - Längsschnitt des Actinienschlauches gefüllt mit Sekret.

Schlauchartigem Körper der Actinien nach aussen ausgepresst (Fig. 9).

In Anbetracht des ziemlich einfachen Körperbaus der Actinien müssen diese von Richet beschriebene Nessel bzw. Curareartige Wirkung tragende

Actinienfäden eine nicht zu übersehende biologische Bedeutung besitzen, zumal ihre rote Farbe in einer Meerestiefe von ca. 15-30 Meter sehr gut wahrnehmbar ist.

ZUSSAMMENFASSUNG.— Der mit einem Albumin verbundene rotviolette Actinienfarbstoff zeigte bei der Spectrophotometrische Absorptionsanalyse ein intensives breites Absorptionsband neben der Linie D mit einem Maximum bei 5550 und drei kleinere bei 4650, 4500, 4350. Es kann sich nicht um ein 6-6' Dibromidigo handeln. Durch Trocknung der wässerigen Farbstofflösung entsteht ein gelblichweisses Pulver, welches bei Wasserzusatz sofort die rote Farbe wieder aufnimmt. Dieser Vorgang kann beliebig oft wiederholt werden. Durch Erhitzen der Farbstofflösung wird diese zersetzt, es tritt eine Veränderung des Spectrums ein, und es fällt Eiweiss aus. Die chromatographische Papieranalyse ergab, dass der Farbstoff an einen Albumin bzw. Pseudoglobulin gebunden ist, (löslich in destilliertem Wasser) das vorwiegend grosse Glutaminsäure und Asparaginsäuremengen neben anderen Aminosäuren enthält.

Weiterhin wurde festgestellt, dass das Eiweiss der Actinienfäden aus mindestens 17 Aminosäuren aufgebaut ist. Es sei auf die quantitativ hohe Mengen von Cysteinsäure, Asparaginsäure und Glutaminsäure hingewiesen.

Im alkoholischen Extract des Farbstoffes, wurde chromatographisch Tetramethylammoniumhydroxyd festgestellt*.

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Ι Σ

Ὁρισμένα εἶδη ἀκτινίων ἀπεκκρίνουν κλωστὰς λευκωματούχους, χρώματος ἐρυθροϊώδους. Ἡ χρωστικὴ αὕτη εἶναι συνδεδεμένη πρὸς λευκωματίνην καὶ κέκταιται χαρακτηριστικὸν φάσμα ἀπορροφήσεως μὲ ἓνα μέγιστον εἰς τὰ 5550 καὶ τρία μικρότερα εἰς τὰ 4650, 4500 καὶ 4350.

Διὰ θερμάνσεως τοῦ ὕδατικοῦ διαλύματος τῆς χρωστικῆς εἰς τοὺς 100°, αὕτη διασπᾶται σὺν τῇ ἐμφανίσει πεπηγότος λευκώματος καὶ διαφόρου φάσματος ἀπορροφήσεως. Πρόκειται πιθανώτατα περὶ χρωστικῆς συγγενοῦς ἴσως, ἀλλὰ διαφόρου τοῦ εἰς τοὺς *Murex Brandaris* ἀνευρισκομένου 6-6' Διβρωμοϊνδικοῦ. Χαρακτηριστικὴ εἶναι ἡ ἀπώλεια τοῦ ἐρυθροϊώδους χρώματος κατὰ τὴν

* Wir möchten hier unseren herzlichen Dank Herrn C. Alexopoulos und Fr. Euthymiou aussprechen, für die Überlassung des Spectrophotometers und Hilfeleistung bei den diesbezüglichen Messungen.

ξήρανσιν τῆς χρωστικῆς καὶ ἡ ἐπανεμφάνισις αὐτοῦ εἰς ὑγρὰν ἀτμόσφαιραν, ἢ ὅταν προστεθῆ ὕδωρ.

Τὸ φαινόμενον τοῦτο δυνάμενον ἐν συνεχείᾳ νὰ ἐπαναληφθῆ, ὑπενθυμίζει τὴν ὁμοίαν μεταλλαγὴν τοῦ χρωματισμοῦ τῶν ἱμωνικῶν βάσεων τοῦ τριφαινολιομεθανίου.

Ἡ χρωματογραφικὴ ἀνάλυσις τῶν πρωτεϊνῶν ἐπὶ διηθητικοῦ χάρτου ἀπέδειξεν ὅτι τὸ λεύκωμα τῶν ἐν λόγῳ κλωστῶν τῶν ἀκτινίων ἀποτελεῖται, ὡς ἔγγιστα, ἐκ 17 ἀμινοξέων εἰς διαφόρους ἀναλογίας. Οὐχ ἦτιον ὅμως ποσοτικῶς τὴν πρωτεύουσαν θέσιν — ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τῆς διὰ νινυδρίνης ἀντιδράσεως — κατέχει τὸ κυστεϊνικὸν ὀξύ, τὸ ἀσπαραγινικὸν καὶ τὸ γλουταμινικὸν ὀξύ. Ἀλκοολικὰ ἐκχυλίσματα ἀπέδειξαν διὰ τοῦ αὐτοῦ τρόπου ἀναλύσεως τὴν ὑπαρξιν μεγάλης ἀναλογίας ἀσπαραγινικοῦ καὶ γλουταμινικοῦ ὀξέος εἰς τὸ μετὰ τῆς χρωστικῆς συνδεδεμένον λεύκωμα, ὡς ἐπίσης τὴν ὑπαρξιν τῆς τετραμίνης ἢ τοῦ τετραμεθυλιοαμμωνιοῦδροξειδίου.

L I T E R A T U R

- 1) D. ACKERMANN, F. HOLTZ, u. H. REINWEIN, Reindarstellung und konstitutionsermittlung eines Giftes der Actinia equina. Zeit. f. Biolog. Bd. 79, 1923.
- 2) D. ACKERMANN, F. HOLTZ u. H. REINWEIN, Ueber die Extractivstoffe der Actinia equina. Zeit. f. Biolog. Bd. 80, 1924.
- 3) D. ACKERMANN, F. HOLTZ u. H. REINWEIN, Ueber das Actinin. Zeit. f. Biolog. Bd. 81. 1924.
- 4) W. ARNDT, Ueber das Vorkommen von Fett bei den Actinien. Zool. Jahrb. Abt. Phys. Vol. 34 1913.
- 5) H. JORDAN, Verdauung bei den Actinien. Arch. Ges. Physiol. Bd. 116, 1907.
- 6) C. KRUKENBERG, Zur kenntnis der Actinienfarbstoffe. Vergl. physiol. Studien. Vol. 2.
- 7) J. LOEB, Zur kenntnis der Actinien. Arch. f. Ges. Physiol. Vol. 59. 1895.
- 8) G. PARKER, The excretion of CO₂ by sea anemons. Journ. Gener. Physiol. Vol. 5, 1922.
- 9) A. PERRET, Contribution à l'étude des poisons des Actinies. Thèse de Paris 1907.
- 10) P. PORTIER et CH. RICHEL, Sur les effets physiol. du poison des Coelenterés Hypnotoxine. Compt. rend. Academie Science. Paris 1902.

- 11) P. PORTIER et RICHET, Sur le poison des Actinies, Actinotoxin. Compt. rend. Soc. Biolog. Vol. 54 1902, Paris.
- 12) CH. RICHET, Sur les poisons des Actinies, Congestine et Thalassine. Compt. rend. Soc. Biolog. Paris Vol. 55 1903.
- 13) CH. RICHET, Notizen über Thalassin. Arch. f. Ges. Physiol. Vol. 108, 1905.
- 14) A. PÜTER, Der Stoffwechsel der Actinien. Zeit. f. allg. Physiol. Vol. 12, 1911.
- 15) ΣΚΕΤΟΣ ΖΕΡΒΟΣ, Ἡ νόσος τῶν γυμνῶν σπογγαλιέων καὶ ἡ πειραματικὴ αὐτῆς ἀναπαραγωγὴ. Πρακτικὰ τοῦ Β' ἐν Ἀθήναις Πανελληνίου Ἰατρικοῦ Συνεδρίου, 1903.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ. — **Beiträge zur Kenntnis der Natur der Proteine von Seetieren.** Mitteilung II. Vorläufige Bemerkungen zur Autolyse der Muskelproteine von *Pagellus Erythrinus*, von *Anast. A. Christomanos* *. Ἀνακοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Γεωργ. Ἰωακείμογλου.

Im Verlauf einer grösseren, nicht abgeschlossener Untersuchung, haben autolytische Versuche in CO₂ Atmosphäre mit Muskel des *Pagellus Erythrinus* und Fractionierung des Autolysates mittels Trichloressigsäure und Phosphorwolframsäure in verschiedenen Zeitabständen, bestimmte Gesetzmässigkeiten des gegenseitigen Verhältnisses dieser Fractionen ergeben.

METHODIK

Die Versuche wurden so ausgeführt dass 2-3 gm. des zu autolysierenden Muskelfleisches, in ein Citrat/HCl Puffergemisch in Chloroformwasser, (unter Beibehaltung aller aseptischen Kautelen), von ph 4,5 und bei 37°-38° eingestellt wurden.

Am Anfang des Versuches wurde chemisch reines CO₂ hindurchgeschickt, und auf einen Druck von 30-40 mm. Hg. reguliert.

Gleich am Anfang des Versuches, und in verschiedenen Zeitabständen dannach, wurden dem Autolysat Proben entnommen.

Die Proben, ca. 2-3 cm³, wurden scharf centrifugiert und das Centrifugat durch Filterpapier Schleicher und Schüll No 602 filtriert.

Im klaren Filtrat wird der Gesamt N-Gehalt nach Kjeldahl bestimmt.

* ΑΝΑΣΤ. Α. ΧΡΗΣΤΟΜΑΝΟΣ: Συμβολαὶ εἰς τὴν μελέτην τῆς φύσεως τῶν πρωτεϊνῶν θαλασσιῶν ζῴων. Ἀνακοίνωσις Β'. Πρόδρομοι παρατηρήσεις περὶ τῆς αὐτολύσεως τῶν μυϊκῶν πρωτεϊνῶν τοῦ *Pagellus Erythrinus*, λιθρίνι.