

electrons are transferred from one ion to a second ion; and 2) two-electron transfer in a ternary complex when two electrons from two ions (one from each) are transferred to a third ion or *vice versa*. It is believed that many complementary two-equivalent reactions proceed *via* the former mechanism [4]. Theoretical support for two-electron transfer in a binary complex comes from the work of Gurnee and Magee [5] concerning the probability of two-electron transfer during the collision of two atoms in gas phase. The possibility of two-electron transfer in a ternary complex, however, has not been investigated. Qualitatively, such a process could be explained in the following way: The first one-electron transfer in a ternary complex leads to a great change in the charge distribution of the complex and represents a large perturbation of the system. Such a perturbation can cause a second one-electron transfer in the complex. If the time interval between consecutive one-electron transfers is shorter than the lifetime of the complex, then we can consider the two one-electron transfers as an instantaneous two-electron transfer. If we admit the possibility of two-electron transfer in a ternary complex, we can explain the recent observation of the catalytic effect of cupric ions in the reaction between ferricyanide and sulphite ions in aqueous solution [6]. The reaction rate was found to be proportional to the product of first powers of concentrations of all three ions (cupric, ferricyanide and sulphite ions) so that a three-centre activated complex is the probable one. Further, no evidence of the formation of dithionate ions (the product of dimerization of the possible intermediate SO_3^-) was found [7]. These facts suggest that the reaction rate is controlled by the probability of two-electron transfer in the ternary complex of cupric, ferricyanide and sulphite ions. On this basis, it is easy to understand (at least on electrostatic grounds) why the presence of small amounts of cupric ions can considerably increase the rate of reaction. Let us suppose the rate of the noncatalyzed reaction to be controlled by the probability of two-electron transfer in the ternary complex of one sulphite and two ferricyanide ions. The replacement of one ferricyanide ion in this complex by one cupric ion will lead to a large decrease of the potential energy of the complex. The equilibrium concentration of the ternary complexes of cupric, sulphite and ferricyanide ions is many orders of magnitude greater than the equilibrium concentration of the complexes of one sulphite and two ferricyanide ions with the same configuration, even if the concentration of cupric ions in the reaction system is very small in comparison with the concentration of ferricyanide ions. The above explanation of the experimental observation is not the only possible one [8] but it seems plausible.

Received September 10, 1970

* The terms binary/ternary complex denote here a configuration of two/three reactants at a close distance where the probability of electron transfer is significant.

[1] Weiss, J.: Discuss. Faraday Soc. **29**, 128 (1960). — [2] Halpern, J.: Quart. Rev. (London) **15**, 207 (1961). — [3] Reynolds, W. L., Lumry, R. W.: Mechanisms of Electron Transfer. New York: Ronald Press 1966. — [4] Sykes, A. G.: Chem. Brit. **6**, 159 (1970). — [5] Gurnee, E. F., Magee, J. L.: J. Chem. Phys. **26**, 1237 (1957). — [6] Vepřek-Šiška, J., Hasnedl, A.: Chem. Commun. **1968**, 1167. — [7] Vepřek-Šiška, J., Wagnerová, D. M.: Coll. Czech. Chem. Commun. **30**, 1390 (1965). — [8] Vepřek-Šiška, J., Šolc, M.: (in preparation).

Die beim Abbau von L-Äpfelsäure durch Milchsäurebakterien entstehenden Isomeren der Milchsäure

F. RADLER, M. SCHÜTZ und H. W. DOELLE*

Institut für Mikrobiologie und Weinforschung der Universität Mainz

Die meisten Milchsäurebakterien bilden aus L-Äpfelsäure CO_2 und Milchsäure [1]. Diese Umsetzung soll durch zwei Enzyme bewirkt werden: durch NAD-abhängige, decarboxylierende Malatdehydrogenase (E. C. 1.1.1.38) und die konstitutiven Lactatdehydrogenasen des Glucose-Stoffwechsels. Während beim Glucose-Abbau mittels der NAD-abhängigen L- und

D-Lactatdehydrogenasen die für die Genera charakteristischen Isomeren der Milchsäure entstehen, wird aus L-Äpfelsäure von den bisher untersuchten Milchsäurebakterien nur L-Milchsäure gebildet [2, 3]. Versuche zur Reinigung des Enzymsystems deuten darauf hin, daß beim Abbau von L-Äpfelsäure die Lactatdehydrogenasen des Glucosestoffwechsels nicht beteiligt sind, sondern die Reaktion durch einen Enzymkomplex katalysiert wird.

Wachsende und ruhende Zellen von *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *L. oenos*, *Pediococcus cerevisiae* und *P. pentosaceus* bilden aus L-Äpfelsäure immer L-Milchsäure. Aus Glucose oder Brenztraubensäure werden dagegen die jeweils für den Stamm typischen Isomeren produziert. Das Malat decarboxylierende System von *Lactobacillus plantarum* B 38 konnte durch Behandlung des Rohextraktes mit Protaminsulfat und MnCl_2 , Chromatographie auf Sephadex und Acrylamidgel-Elektrophorese von den L- und D-Lactatdehydrogenasen getrennt werden. L-Äpfelsäure wird auch von diesen gereinigten Extrakten, in denen keine L-Lactatdehydrogenase nachweisbar ist, zu CO_2 und L-Milchsäure umgesetzt. Für die Reaktion ist NAD erforderlich, dessen Reduktion im optischen Test bei Präparaten aus *Lactobacillus* und *Leuconostoc* nicht erkennbar ist, während bei Präparaten aus *Schizosaccharomyces* [4] und sogar *Streptococcus* [5] die Bildung von NADH_2 beobachtet werden kann.

In weiteren Untersuchungen wurde unter einer Reihe von Stämmen von *Leuconostoc mesenteroides* ein Stamm (L. m. 99) gefunden, der aus Glucose keinerlei L-Milchsäure, sondern nur D-Milchsäure bildet. Extrakte dieses Stammes enthalten weder NAD-abhängige noch -unabhängige L-Lactatdehydrogenasen. Auch bei diesem Stamm wurde beobachtet, daß beim Abbau von Äpfelsäure nur L-Milchsäure entsteht.

Die Ergebnisse zeigen, daß L-Lactatdehydrogenase des Glykolyse-systems bei der Umsetzung von Äpfelsäure zu L-Milchsäure bei *Lactobacillus*- und *Leuconostoc*-Arten nicht beteiligt ist; wahrscheinlich wird bei diesen Organismen die Oxidoreduktion der Äpfelsäure durch einen NAD-abhängigen Enzymkomplex bewirkt.

Eingegangen am 3. September und 9. Oktober 1970

* Stipendiat der Alexander v. Humboldt-Stiftung.

[1] Übersichten: Kunkee, R. E.: Adv. appl. microbiol. **9**, 235 (1967); Radler, F.: Zbl. Bakt. II. Abt. **120**, 237 (1966). — [2] Kaufman, S., Korke, S., del Campillo, A.: J. biol. chem. **192**, 301 (1951). — [3] Peynaud, E., Lafon-Lafourcade, S., Guimberteau, G.: Rev. Ferment. Ind. Aliment **22**, 64 (1967). — [4] Temperli, A., et al.: Biochim. Biophys. Acta **110**, 630 (1965). — [5] London, J., Meyer, E. Y.: J. Bacteriol. **98**, 705 (1969).

Zur Struktur der Hülle von Milchfettkügelchen

W. BUCHHEIM

Institut für Physik der Bundesanstalt für Milchforschung, Kiel

Für die elektronenmikroskopische Darstellung der Fettkügelchen und Caseinteilchen der Milch hat sich die Präparation mit der Gefrierätztechnik als besonders vorteilhaft erwiesen [1, 2]. Auch die Struktur der die Fettkügelchen umgebenden Hüllenschicht kann so wesentlich detaillierter als mit anderen Präparationsmethoden abgebildet werden.

Für eine vergleichende Untersuchung der Hüllenstruktur wurde Frauen-, Kuh-, Schafs- und Schweinemilch verwendet; die Milch wurde sofort nach dem Austreten aus der Milchdrüse präpariert.

Bei allen vier Milchproben wurde ein übereinstimmender heterogener Aufbau der Hülle festgestellt. Neben einer weitgehend unstrukturierten und ca. 50–100 Å dicken, membranartigen Schicht, welche das Fettkügelchen gleichmäßig bedeckt, beobachtet man in unterschiedlicher Stärke daran angelagerte kugelförmige oder etwas abgeflachte Teilchen, deren Durchmesser im allgemeinen zwischen ca. 300 und 2000 Å liegt (Fig. 1). Man findet derartige Teilchen auch einzeln im Milchserum. Durch ihre ziemlich glatte Oberfläche sind sie deutlich von den etwa gleich großen Caseinteilchen zu unterscheiden. Es ist bemerkenswert, daß der heterogene Aufbau der Hüllen z.B. nach mehrtägiger Aufbewahrung oder mechanischen Behandlung (Schütteln) der Milch weitgehend verloren gehen kann.

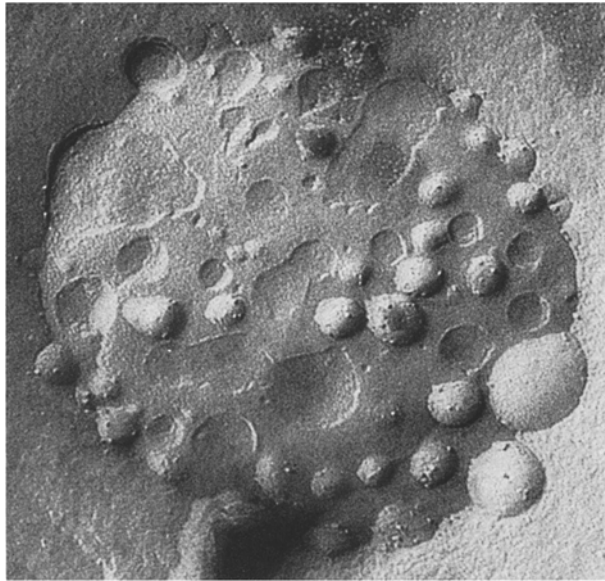


Fig. 1. Oberfläche eines Fettkügelchens aus Frauenmilch mit dünner Hüllenschicht und Lipoprotein-Micellen. 80000:1

Diese Struktur der Fettkügelchenhülle stimmt gut mit bestehenden Modellvorstellungen überein [3–5]. Die oberflächlich angelagerten Teilchen werden deshalb vom Verf. als Lipoprotein-Micellen angesehen. Ihr Nachweis galt bisher als fraglich, weil mit anderen Präparationsverfahren keine eindeutige Unterscheidung zu den Caseinteilchen möglich schien. Die bereits früher elektronenmikroskopisch nachgewiesene Abnahme der Hüllendicke nach einer mechanischen Behandlung der Milch [6] kann somit auf die Entfernung dieser Micellen von der Oberfläche der Fettkügelchen zurückgeführt werden.

Eingegangen am 17. September 1970

[1] Eggmann, H.: *Milchwissenschaft* **24**, 479 (1969). — [2] Buchheim, W.: *ibid.* **25**, 65, 223 (1970). — [3] Morton, R. K.: *Biochem. J.* **57**, 231 (1954). — [4] Hayashi, S., Smith, L. M.: *Biochemistry* **4**, 2550 (1965). — [5] Swope, F. C., Brunner, J. R.: *J. Dairy Sci.* **53**, 691 (1970). — [6] Knoop, E., Wortmann, A., Knoop, A.-M.: *Naturwissenschaften* **45**, 418 (1958).

Interferon-Induktion durch Poly(A) · 2 Poly(I)

E. LODEMANN und A. WACKER

Institut für Therapeutische Biochemie
der Universität Frankfurt a. M.

Die Interferon-induzierende Wirkung von Poly(I) · Poly(C) und Poly(A) · Poly(U) in verschiedenen Zellsystemen wurde bereits eingehend untersucht. Poly(I) · Poly(C) erwies sich dabei als guter, Poly(A) · Poly(U) als schlechterer Interferon-Induktor. Die äquimolare Mischung von Poly(A) und Poly(I) hat nach De Clercq u. Merigan [1] in menschlichen Hautfibroblasten im Gegensatz zu Poly(I) · Poly(C) keine Interferon-induzierende Wirkung.

Wir untersuchten die Wirkung einer 1:2-Mischung von Poly(A) und Poly(I), da nach Rich [2] Poly(A) · Poly(I) im Bereich der physiologischen NaCl-Konzentration nur vorübergehend als Doppelhelix vorliegt und sich sehr schnell in einen dreisträngigen Komplex umlagert, dessen wahrscheinliche Basenpaarung von Miles [3] beschrieben wurde. Unter den von uns angewandten Versuchsbedingungen (0,01 M Phosphatpuffer pH 7,2, 0,15 M NaCl) hat der Komplex einen Schmelzpunkt $T_m = 44,5$ °C.

Die Tabelle zeigt die durch die drei Polynucleotid-Mischungen bewirkte Interferon-Induktion in Kulturen von Mäusefibroblasten (L-Zellen) in Abwesenheit und in Gegenwart von DEAE-Dextran (20 µg/ml) als Verstärker. Die Interferon-Titer wurden anhand des cytopathogenen Effekts von VSV-Viren bestimmt.

Tabelle. Induktion von Interferon durch Polynucleotid-Mischungen (je 10 µg/ml)

	T_m [°C] (Mittelwerte)	Interferon-Titer		
Poly(I) · Poly(C)	63,5	120	40	62
+ DEAE-Dextran		530	550	380
Poly(A) · Poly(U)	60	60	44	60
+ DEAE-Dextran		270	72	106
Poly(A) · 2 Poly(I)	44,5	160	80	70
+ DEAE-Dextran		640	800	450

Wie die Ergebnisse zeigen, ist die Wirkung von Poly(A) · 2 Poly(I) in unserem Testsystem zumindest genauso gut wie die von Poly(I) · Poly(C).

Untersuchungen mit anderen Polynucleotid-Mischungen sind im Gange, aus denen wir hoffen, Aussagen über die für die Interferon-Induktion wesentlichen Eigenschaften von Nucleinsäuren machen zu können.

Wir danken Frau H. Feller und Frau M. Filipi für die Durchführung der Interferon-Teste.

Eingegangen am 30. September 1970

[1] De Clercq, E. D., Merigan, T. C.: *Persönl. Mitteilung*, Januar 1969. — [2] Rich, A.: *Nature* **181**, 521 (1958). — [3] Miles, H. T.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **51**, 1104 (1964).

Chlorophyll c in *Vaucheria*

J. A. DE GREEF and R. CAUBERGS

Laboratory of General Botany, R. Ü. C. A., Antwerp (Belgium)

A knowledge of the component pigments in phototrophic plants is very valuable in the systematic classification of these organisms and in the study of the mechanism of photosynthesis. Whether one considers the morphology of the genus *Vaucheria*, its reproductive system, or its chemical composition, it is very difficult to define its taxonomic position and its phylogenetic relationships. Although several attempts have been made to analyse the pigment content of *Vaucheria* [1–3], the results are neither convincing nor conclusive. The presence of chlorophyll c has never been reported in *Vaucheria* species.

Vaucheria dichotoma and *V. geminata* were collected from a natural stand. The plants were washed thoroughly in running tap water for several days. Only green thalli were used for pigment analysis. The pigments were extracted in an ice bath with light petroleum plus 2% methanol by mixing in a Waring Blendor for 10 min. The pigment extract was centrifuged and the pigments were passed over a starch column (3 × 100 cm). The developing solvent was 50% petroleum ether in benzene (v/v). Most of the chlorophyll c remained at the top of the column as an olive-green zone. Washing the column over its considerable length was very favorable for removing contaminating chlorophyll a in the trailing region of the chlorophyll c band. The chlorophyll c zone was collected, eluted with diethyl ether and concentrated under vacuum for thin-layer chromatography. Thin layers of cellulose MN 300 were prepared according to the method of Egger [4]. The powder was washed with hot ethanol, filtered off and immediately stirred with dioxane to give a thick paste. This was diluted with water (1:3 v/v) to a suitable consistency, spread onto plates and dried at 100 °C for several hours. The plates were then impregnated with paraffin. The chlorophyll c extract was applied to the origin and the plates were run in one dimension with paraffin/diethyl ether/acetone (20:20:1 v/v) as solvent. Chlorophyll c remained close to the start line and was therefore readily removed from the other pigments with much higher R_F -values.

The chlorophyll c preparation we obtained in this way from *Vaucheria dichotoma* and *V. geminata*, had an identical absorption spectrum to chlorophyll c, prepared from the brown alga, *Fucus vesiculosus*, according to a modified method of Smith and Benitez [5].

It is highly probable that this fraction represents the "chlorophyll a like substance" as it was found by Sagromsky [1] and