Alkoholdehydrase aus Trockenhefe

Von PAUL OHLMEYER und DIETER GRÜNWEDEL

Leibniz Kolleg und Physiologisch-Chemisches Institut
der Universität Tübingen

(Z. Naturforsch. **13 b**, 138 [1958]; eingeg. am 14. Dezember 1957)

Wird Hefe nach der Vorschrift von A. v. LEBEDEV¹ getrocknet und mit Wasser bei 37° C maceriert, dann gehen Gärungsfermente, unter ihnen Alkoholdehydrase, in Lösung. Aber auch die dabei nicht gelösten Zellbestandteile katalysieren die Dehydrierung von Äthylalkohol in Gegenwart von Diphosphopyridinnucleotid (DPN).

In einer kalten Suspension von nicht macerierter Trockenhefe liegt das Ferment ebenfalls z. T. gelöst, z. T. gebunden vor. Aber, bezogen auf die Einwaage, ist diese Suspension nicht halb so aktiv wie das Präparat nach LEBEDEV: Macerieren steigert die Fermentaushute.

Wir fanden, daß diese Steigerung auf dem Zusammenwirken von unlöslicher und löslicher Substanz beruht. Die unlösliche Substanz ist in gewaschener Trockenhefe enthalten, die lösliche in einem Extrakt aus Trockenhefe. Gewaschene Hefe und Extrakt besitzen beide Fermentwirkung. Werden sie einzeln und gemischt in die Wärme gebracht, dann nimmt die feuchte gewaschene Hefe an Wirkung ein wenig zu, der Extrakt bleibt sich gleich, und die Mischung steigt auf einen Wert, der, nach Abzug des Blindwertes aus Extrakt, das Vierfache der Wirkung in der gewaschenen Hefe erreichen kann. Der Zuwachs in der Mischung geht zum größten Teil in Lösung. Die an die gewaschene Hefe gebundene Wir-

kung, die wir in den Mischungsansatz bringen, verändert sich nur wenig; aber auch hier können öfters Anstiege festgestellt werden.

Der mit Zellresten wirksame Faktor im Extrakt ist wahrscheinlich niedermolekular. Ob er für den Wirkungsanstieg in der feuchten gewaschenen Hefe entbehrlich ist oder nicht völlig ausgewaschen wurde, wissen wir noch nicht.

Die getrennt beobachteten Vorgänge der unmittelbaren Lösung und der Zunahme im Ansatz mit Zellresten und Extrakt erklären gemäß Tab. 1 die Ausbeute an Alkoholdehydrase bei der Maceration nach LEBEDEV.

In der Suspension		Aus A hervor- gegangen		Im LEBEDEV- Präparat
A gebunden	B gelöst	mit Extrakt	feucht mit Wasser	
30	40	130	50	180
	22% + 72% = 94%			100%

Tab. 1 Erklärung der Fermentaushute. Die Zahlen bedeuten Fermenteinheiten, bestimmt durch die Geschwindigkeit der Hydrierung von DPN. Sie beziehen sich auf 1 mg Trockenhefe oder auf die aus dieser Menge gewonnene Fraktion. In der Angabe des Versuchs mit Extrakt ist dessen Eigenwert (27 Einheiten) abgezogen.

Man entnimmt der Tabelle, daß die Summe der Wirkungen des unmittelbar gelösten und des aus Zellresten hervorgebrachten Ferments der Wirkung im LEBEDEV-Präparat etwa gleichkommt.

¹ A. v. LEBEDEV, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **73**, 447 [1911].

Enhanced knock-down in various laboratory reared resistant housefly strains subjected to continuous contact with cetyl bromoacetate

By K. R. S. ASCHER

Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità,
Roma

(Z. Naturforsch. **13 b**, 138—139 [1958]; eingeg. am 26. November 1957)

In a previous work¹ it has been demonstrated that a DDT-resistant strain of houseflies showed a better knock-down when poisoned with solutions of alkali bromides, than a normal strain. A similar enhanced susceptibility was found in a resistant strain exposed to tarsal contact with various aryl and alkyl bromoacetates. However, the only substance with which these findings could be verified also in an extremely DDT- and polyresistant Swiss strain (K₁), was cetyl bromoacetate².

¹ K. R. S. ASCHER and C. KOCHER, Experientia [Basel] **10**, 465 [1954].

Some ideas advanced by Prof. A. W. A. BROWN³ of the Department of Environmental Sanitation of the W. H. O. induced us to reinvestigate the action of cetyl bromoacetate on housefly strains resistant to various insecticides.

Experimental

The following laboratory strains of *Musca domestica* L. were used: s. p. 139.

Continuous tarsal contact in Petri dishes during 2 hours according to the procedure previously described² was employed.

Results

Results are summarized in Table 1, which is a representative example of several repetitions, each of which was done with all strains concurrently.

² K. R. S. ASCHER, Riv. Parassitol. **18**, 185 [1957].

³ Private communication.

Strain	Origin and History	Lit. ref.	Average weight of female [mg]
1. S-Rome	Italian, susceptible	4	17.6
2. Lond.	English, nearly susceptible		18.8
3. P ₂	Swiss, selected for resistance to diazinon		17.5
4. K ₁	Swiss, highly DDT- and polyresistant	1	25.0
5. R-Sard.	Sardinian, chlordane-resistant	4	17.5
6. Ac-R	Italian, selected by BETTINI and BOCCACCI during 80 generations with chloroacetic acid using the R-Sard. strain as starting material	4, 5	20.2

In strains 3—6, selection with the appropriate insecticide is being carried out in each generation.

Observation time [min]	% <i>k. d.</i>					
	S-Rome	Lond.	P ₂	K ₁	R-Sard.	Ac-R
10	—	—	5	—	—	3
20	—	—	7	—	5	7
30	—	—	10	—	7	10
60	3	3	22	23	35	32
90	27	30	62	63	67	63
120	67	67	82	87	87	87
Σ % <i>k. d.</i>	97	100	188	173	201	201

Table 1. *Continuous tarsal contact of various strains of houseflies with cetyl bromoacetate.* Deposits of 1 g/sq.m. on glass, 2 days old, from acetone solutions; $T=23^{\circ}\text{C}$. 4×10 Females per strain, 2—3 days old, fed water and sugar only.

All the four strains selected for resistance evidently are knocked down quicker than the two reference strains. It stands to reason, that such preferential toxicities could be demonstrated clearly only by a tarsal contact method, which excludes the in this case disturbing differences in "pick-up" of the toxicant between various strains. Continuous contact⁶ and *not* contact of short duration⁶ was thus the method of choice.

⁴ S. BETTINI and M. BOCCACCI, Selected Sci. Papers, Ist. Sup. Sanità 1, 155 [1956].

⁵ M. BOCCACCI and S. BETTINI, Rend. Ist. Sup. Sanità 19, 1237 [1956].

Thanks are due to Dr. S. BETTINI for kindly providing laboratory facilities and for putting the strains S-Rome, Lond., R-Sard. and Ac-R at my disposal, the J. R. GEIGY S.A., Basle for the strains K₁ and P₂, Prof. E. D. BERGMANN for the sample of cetyl bromoacetate used in this study and the Direzione Generale delle Relazioni Culturali con l'Estero, Rome for a research scholarship.

Full details of this work will be published in Bull. W.H.O.

⁶ C. KOCHER, W. ROTH and J. TREBOUX, Anz. Schädlingssk. 26, 65 [1953].