

ausgeschlossen werden, da sich die auf anderem Wege bereits dargestellte¹ α -Polyasparaginsäure annähernd gleichen Molgewichtes in Wasser nur spärlich löst. Wir glauben, dass die leichte Wasserlöslichkeit das Vorherrschen oder sogar die Ausschliesslichkeit der β -Asparagylbindungen andeutet. Sollte dies der Fall sein, so stünde dieses Polypeptid (abgesehen von seinem razemischen Charakter) der nativen D-Polyglutaminsäure² konstitutionell nahe und wäre eben deshalb auch in biologischer Hinsicht besonders interessant.

J. KOVÁCS, I. KÖNYVES
und Á. PUSZTAI

Organisch-Chemisches Institut der Universität Budapest, den 2. April 1953.

Summary

Aspartic acid changes on being heated without solvents to a not completely uniform substance of anhydride character. This appears to have a structure II different from that assigned to it by earlier investigators. Mild hydrolysis produces a mixture of polyaspartic acids which has been freed by dialysis from constituents of low molecular weight leaving a polypeptide with the approximate molecular weight of 8,200. It is presumed that this polyaspartic acid, differing from the known synthetic α -polyaspartic acid, closely approximates to the β -polyaspartic acid of structure IV.

¹ M. FRANKEL und A. BERGER, J. Org. Chem. 16, 1513 (1951).

² J. KOVÁCS und V. BRUCKNER, Research 5, 194 (1952); Chem. Soc. 1952, 4255. – J. KOVÁCS, V. BRUCKNER und K. KOVÁCS, Chem. Soc. 1953, 145. – V. BRUCKNER, J. KOVÁCS und H. NAGY, Chem. Soc. 1953, 148. – V. BRUCKNER, J. KOVÁCS, K. KOVÁCS und H. NAGY, Exper. 9, 63 (1953). – V. BRUCKNER, J. KOVÁCS und K. KOVÁCS, Chem. Soc. 1953, 1512.

L'utilisation des monosaccharides, des polysaccharides et des substances ligneuses par une souche de micro-organisme cellulolytique

Les monosaccharides, les polysaccharides et les substances ligneuses du sol sont transformées par une flore spécifique qui utilise probablement ces corps chimiques comme substances nutritives.

Nous avons isolé et purifié une souche de micro-organisme à thalle cloisonné dont la position systématique n'est pas exactement délimitée (thalle T1). Cet organisme présente un polymorphisme intéressant, qui sera décrit; les milieux offerts sont à base de glucose, d'amidon, de cellulose ou de matières ligneuses. Après 10 jours nous constatons la présence générale du thalle floconneux dans un milieu de conservation à base de glucose, de sels minéraux, de moût de bière et d'agar.

Après 10 jours également, la croissance est positive sur un milieu contenant de la cellulose (500 mg de papier filtre par culture) et des sels minéraux (Fig. 1). Dans ce milieu nous observons la production de formation du type sclérotés¹. Dans un milieu contenant des substances ligneuses² la croissance se produit, mais il ne se forme que rarement des sclérotés.

¹ Nous remercions les laboratoires de la Maison Sandoz à Bâle qui nous disent ne pas avoir décelé les alcaloïdes de l'ergot du seigle dans ces sclérotés, soumises à une analyse.

² Nous exprimons notre gratitude à la fabrique de cellulose vorm. Dr. B. Sieber S.A., Attisholz (So.) qui a mis à notre disposition l'attisol I 30/32° Bé et une préparation de Ca-sulfonate de lignine.

En avril 1953 nous avons assisté, dans nos cultures, à des transformations morphologiques qui permettront peut-être de classer la souche. L'une de ces transformations fut l'éclatement et la germination des sclérotés qui donnent lieu à un nouveau thalle T2 dont la couleur est brun foncé. Il est possible que les deux thalles appartiennent au même organisme. Ce thalle T2 produit des organes libérant des germes rappelant, par leur mode de formation, les phialospores de VUILLEMIN¹. En principe le thalle T2 croît sur les mêmes milieux que le thalle T1; il utilise la cellulose et les substances ligneuses (Fig. 2). L'ensemble des observations faites nous conduit à proposer un milieu «complet» qui doit suffire à la souche et permettre le développement en laboratoire.

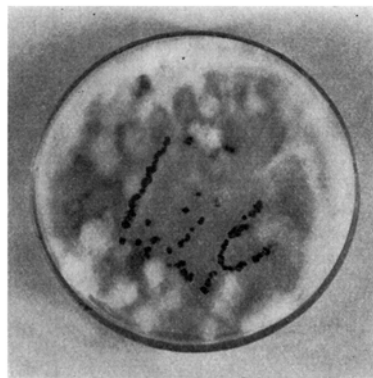


Fig. 1. Culture du thalle T1 sur milieu contenant de la cellulose. En noir les sclérotés formés.

Milieu complet pour souche lignicole: Cellulose (papier-filtre) 500 mg/culture; Amidon 15 g; Glucose 15 g; Attisol I 15 cm³; KH₂PO₄ 1,5 g; KNO₃ 3 g; MgSO₄ 0,5 g; moût de bière 100 cm³; Agar 3%; H₂O 1000 cm³; pétris 9,5 cm ø avec 25 cm³ de milieu. Pour des expériences plus précises, concernant l'action d'une cellulase dont nous présumons l'existence, nous utilisons un milieu composé comme suit: Cellulose (papier-filtre) 500 mg/culture; KNO₃ 3 g; KH₂PO₄ 1,5 g; MgSO₄ 500 mg; H₂O 1000 cm³; Agar 3%. Le papier-filtre est posé sur un support en verre.

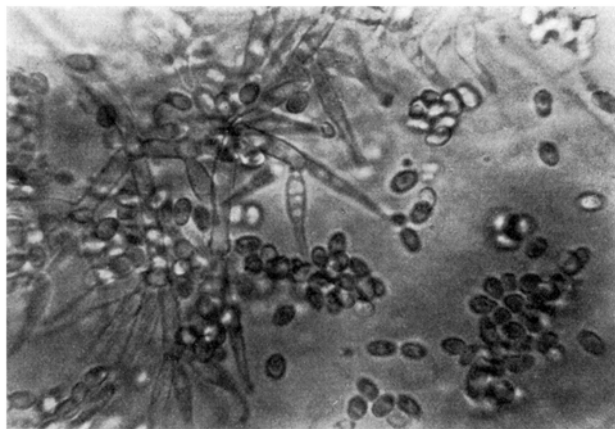


Fig. 2. Culture du thalle T2 sur milieu contenant de la cellulose. Formation des phialospores. Microphotographie im. d'huile 1/12; Oc. 10 ×.

¹ M. LANGERON, Précis de Mycologie (Masson et Cie, Paris 1945), p. 235.

Ce milieu coulé dans des pétris est inoculé à la pincette par un fragment du thalle T1. Pendant les dix premiers jours, le thalle se répand sur toute la surface offerte. Il s'agrippe aux fibres du papier. Dès le dixième jour, les sclérotés se forment. La première phase est terminée. Cette phase de croissance est certainement aérobie, l'air contenu dans les pétris étant suffisant. Dans la deuxième phase nous pouvons supposer un état d'anaérobiose partiel. La souche produit elle-même du CO_2 qui peut s'amasser dans le milieu fermé. Le champignon reste vivant, il est repiquable et continue à se transformer, mais il digère surtout toute la cellulose mise à sa disposition. Cette décomposition de la cellulose demande un à deux mois après lesquels le milieu devient transparent. Il nous reste à étudier le mécanisme de cette action. Au cours de la deuxième phase, le champignon libère-t-il dans le milieu les enzymes responsables, sans pour cela utiliser les produits de la dégradation, puisqu'à ce moment le maximum du développement est atteint?

Selon une autre hypothèse on pourrait croire à une transformation dirigée par le champignon qui se trouverait dans l'obligation de faire participer à son propre métabolisme les substances dégradées provenant de cette deuxième phase.

Par des expériences faites *in vitro*, du type de celles effectuées par REESE et col.¹, il sera sans doute possible de déterminer le genre de *cellulase*, dont nous postulons l'existence, active dans ce cas particulier.

M. A. ROULET

Institut et Jardin botanique de l'Université de Berne, le 22 août 1953.

Summary

A strain of Fungus was isolated which is able to live on media containing monosaccharides, polysaccharides, cellulose and lignin. We hope to study one of the mechanisms of cellulose degradation by cellulase.

¹ E. T. REESE et H. S. LEVINSON, *A comparative study of the breakdown of cellulose by microorganisms*, *Physiologia plantarum*, Vol. 5 (1952), p. 345.

Spreading Factor and Mucopolysaccharides in the Central Nervous System of Vertebrates

Preliminary observations concerning the so-called interstitial spaces and their contents in the central nervous system of vertebrates are now the subject of interest in a published series of brief reports¹.

Hyaluronidase enzyme action shows that the administration of this enzyme with injected liquids helps the spreading process within the so-called interstitial spaces of the central nervous system tissues (DURAN REYNALD's Spreading Factor) (Figure); whereas, all injected liquids without enzymes provoke immediate breaking-up or destruction of nerve centres.

The behaviour of nerve centres to the spreading factor was demonstrated in a series of experiments made on nervous tissue of many species of mammalia.

The spreading factor test on the nervous system of small vertebrates was replaced by the dissociation test of these enzymes on the nerve centres, that is, within a few hours after treating small fragments of nervous tissue with hyaluronidase enzyme the nervous tissue was easily dissociated².

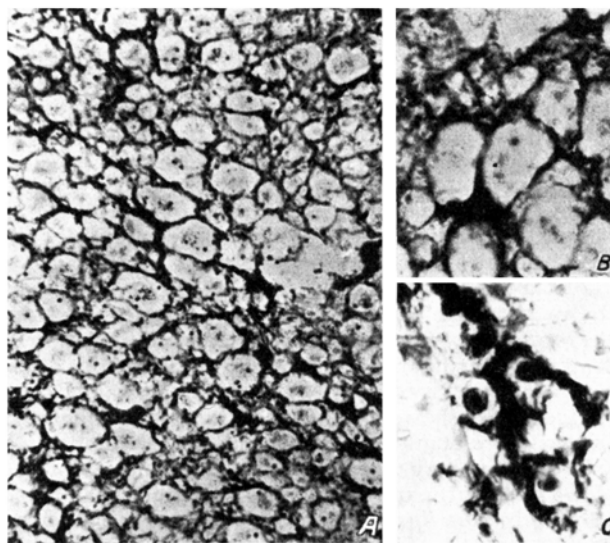
¹ A. BAIRATI and G. MATTIOLI, *Boll. Soc. it. Biol. sper.* 27, 127 (1951); *Atti Soc. it. Anat. Pavia* 1951, pubbl. in *Monit. Zool. it. Suppl.* 60, 101 (1952).

² A. BAIRATI, *Boll. Soc. it. Biol. sper.* 28, 1143 (1952).

The well defined behaviour of the connective tissues in respect to hyaluronidase enzymes suggested the possible analogy that mucopolysaccharides may be embedded in the so-called interstitial spaces of the central nervous tissues. We, therefore, arranged a series of histochemical experiments to attempt to show the existence and localization of this ground substance in the nervous centres in the different species of phyla. These experiments required the collaboration of many research workers attached to this Institute of Human Anatomy¹. The details of these experiments and observations were the subject of separate published reports².

Brief results and conclusions

(1) In all nervous systems of vertebrates so far tested, it was possible to demonstrate that the cohesive materials between nerve cells, fibres, glia and blood vessels are sharply influenced by hyaluronidase enzymes. Modified cohesiveness of the aforesaid parts after enzyme treatment is revealed by an easy diffusion of the injected liquids (Figure) and by the dissociation of the fresh tissues.



Bos taurus spinal cord. The specimen has been injected with India ink and hyaluronidase. A, cross section of the white substance (120 $\times$); B, details of A, high magnification (500 $\times$); C, same as B: India ink is spread between glial cells (600 $\times$).

(2) HOTCHKISS reaction and metachromasia tests are most useful to demonstrate these cohesive materials. It is advisable, before attempting these colour tests, to eliminate all probable causes of error which may be brought about by nucleic acids, glycogen, and the glycolipids formed by the cerebrosides during fixation. Once these elements are taken into consideration, positive value and reliability may be attributed to the HOTCHKISS reaction and the metachromasia tests for the presence of mucopolysaccharides.

¹ A. BAIRATI, A. BAIRATI jr., E. BARTOLI, G. BERTACCINI, G. MARSICO, F. MASSARI, M. PATERNO, and G. TRIPOLI, *Boll. Soc. it. Biol. sper.* 28, 1447 (1952).

² A. BAIRATI, *Atti Acc. Pugliese Sci.* 11, 195 (1952). – A. BAIRATI and G. TRIPOLI, *Atti Soc. it. Anat. Napoli* 1952, pubbl. in *Monit. Zool. it. Suppl.* 61, 105 (1952) (amphibia). – A. BAIRATI jr. and M. PATERNO, *ibidem* (fishes) pag. 107. – E. BARTOLI and G. BERTACCINI, *ibidem* (birds) pag. 109. – F. MASSARI and G. MARSICO, *ibidem* (mammalia) pag. 110.