

Rôle of the Nucleus in the Maintenance of the Protein Level in the Alga *Acetabularia mediterranea*

BRACHET and CHANTRENNE¹ have shown that a difference in the uptake of labelled CO₂ by the proteins of the nucleated and non-nucleated regenerating segments of *Acetabularia mediterranea* can first be noticed 2 weeks after the operation, i.e. at the time when regeneration in non-nucleated segments ceases. It was also found² that the lowering of the ability to incorporate CO₂ into the proteins is more pronounced in the small cytoplasmic granules than in the chloroplasts. These observations were paralleled by the finding³ that during a first period after the operation no difference could be detected in the amount of protein-N between nucleated and non-nucleated regenerating algae. It was by the end of the second week that a decrease was observed in the latter, while the former showed a steady increase.

On this last point, however, my observations are somewhat at variance as they seem to indicate that a decrease of protein-N in non-nucleated segments of *Acetabularia mediterranea* is already noticeable during the first week following the operation.

The experiments were performed on batches of *Acetabularia mediterranea* obtained from the Zoological Station, Naples. "Erdschreiber" solution was used as a culture medium for both normal and regeneration algae. Before the analysis, the algae were rapidly rinsed in distilled water and then homogenised with cold 5% trichloro-acetic acid. Protein and non-protein-N (P-N and NP-N) were estimated in the insoluble and soluble fractions respectively by direct nesslerization after combustion. The results were calculated as the ratio between protein-N and non-protein-N (P-N/NP-N), which was considered to be a much better reference than wet or dry weight or length of the algae, which may be liable to undergo changes independently of the regeneration process.

The results of the experiments are summarized in the above diagramm. The curve shows that in both nucleated and non-nucleated segments an increase of the ratio P-N/NP-N occurs during the first day following the operation. In the following days this ratio undergoes a decrease, which is, however, much greater in the non-nucleated than in the nucleated algae. In fact, while in the latter the values slowly approach the mean value for normal algae (1.47 ± 0.078), in the former already during the 3rd–4th day they are well below it. The decrease goes on slowly until the 13th day, when the observations were discontinued. In one experiment, marked by × in the diagramm, the values for P-N/NP-N were considerably higher than in the other experiments during the first day after the operation. Also in this case, however, in the non-nucleated segments they were well below those of the nucleated ones.

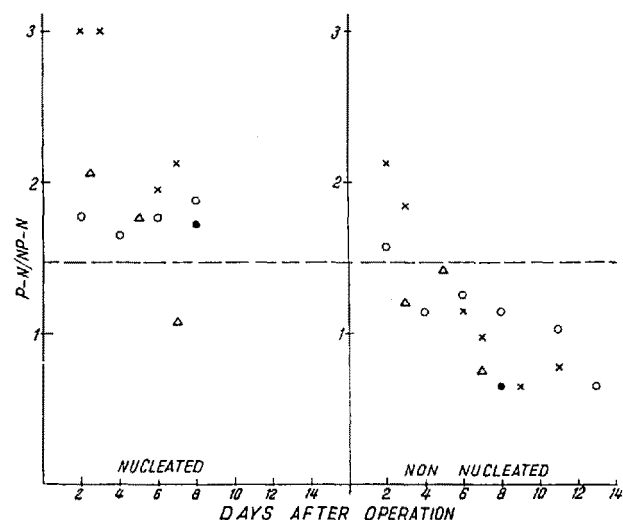
These experiments seem to indicate the presence in *Acetabularia mediterranea* of some proteins the maintenance of which is strongly influenced by the nucleus.

¹ J. BRACHET, H. CHANTRENNE, *Protein Synthesis in Nucleated and Non-Nucleated Halves of Acetabularia Mediterranea Studied with Carbon-14 Dioxide*, Nature 168, 950 (1952).

² J. BRACHET and H. CHANTRENNE, *Incorporation de C¹⁴O₂ dans les protéines des chloroplastes et des microsomes de fragments nucléés et anucléés d'Acetabularia mediterranea*, Arch. int. Physiol. 60, 547 (1952).

³ F. VANDERHAEGHE, *Mesures de croissance de fragments nucléés et énucléés d'Acetabularia mediterranea*, Arch. int. Physiol. 60, 190 (1952).

Possibly they are the most metabolically active ones. Also in *Amoeba* a decrease of dipeptidase has been ob-



Values of the P-N/NP-N ratio in nucleated and non-nucleated regenerating segments of *Acetabularia mediterranea*. Various symbols refer to the experimental series. Dotted line indicates the mean values for normal algae.

served following enucleation, while proteinases did not show any appreciable change¹.

The present work has been supported by a grant of the Rockefeller Foundation to the Institute of Comparative Anatomy of the University of Palermo.

G. GIARDINA

Department of Comparative Anatomy, University of Palermo, February 18, 1954.

Riassunto

Sono state studiate le variazioni del rapporto tra l'N proteico e non proteico in segmenti rigeneranti, nucleati ed anucleati, di *Acetabul. medit.* I risultati ottenuti hanno dimostrato che il predetto rapporto aumenta in entrambi i segmenti il primo giorno dopo l'operazione. Nei giorni seguenti esso diminuisce in entrambi i segmenti, ma più sensibilmente in quelli anucleati, nei quali va al di sotto del valore medio delle alghe normali già dopo il 3°–4° giorno.

¹ E. URBANI, *La teneur en dipeptidase et en protéinase de fragments nucléés et énucléés d'amibes*, Arch. int. Physiol. 60, 190 (1952).

Heterologe Transplantation von Tumoren nach Vorbehandlung der Wirtstiere mit radio-aktiven Isotopen

Tumoren mit einer bestimmten Tierspezies können mit der in der Tumorforschung üblichen Transplantationstechnik nicht auf eine andere Spezies übertragen werden. MURPHY¹ zeigte jedoch schon 1914, dass auf Ratten implantierte Mäusetumoren während einer gewissen Zeit weiterwuchsen, wenn diese Ratten mit einer Röntgenganzbestrahlung vorbehandelt wurden. In der letzten Zeit wurden diese Versuche bestätigt².

¹ J. MURPHY, J. amer. med. Assoc. 62, 1459 (1914).

² H. W. TOOLAN, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77, 572 (1951). – W. BOLLAG und CL. MEYER, Oncologia (im Druck).

Im folgenden wird über die erfolgreiche heterologe Transplantation eines Mäusetumors auf junge Ratten, die mit radioaktiven Isotopen vorbehandelt wurden, berichtet¹.

Methodik. Wir verwendeten das Crocker-Sarkom der Maus, das wir in Form von etwa 1 mm³ grossen Stücken auf junge Albinoratten von 50 g Gewicht subkutan transplantierten. Als Mass der Tumorgrosse diente uns das Produkt aus den beiden grössten Durchmesser des Tumors.

P³² wurde als Lösung von Na₂ HPO₄ intraperitoneal injiziert. Au¹⁹⁸ wurde als kolloidales Präparat teils intravenös, teils intraperitoneal appliziert. 16 Ratten erhielten je 0,125 mC P³² in 0,25 cm³ Lösung intraperitoneal injiziert. Je 8 Ratten wurden am 1. bzw. 11. Tag nach der P³²-Injektion mit dem Crocker-Sarkom der Maus implantiert. 16 Ratten wurde eine Injektion von je 0,75 mC Au¹⁹⁸ in 0,23 cm³ Lösung intravenös und weiteren 16 Ratten dieselbe Dosis intraperitoneal verabreicht. Bei je 8 Ratten aus beiden Versuchsgruppen wurde die Heterotransplantation 1 bzw. 5 Tage nach der Injektion durchgeführt.

Resultate. Die Resultate dieser Experimente sind aus der Tabelle ersichtlich.

Mittelwerte der maximalen Tumorgrosse von je 8 auf gleiche Weise behandelten Ratten.

Vorbehandlung	Maximum der Tumorgrosse in mm ² (Länge × Breite)
Kontrollen	51
P ³² i.p. Heterotransplantation: 1 Tag nach Injektion	142
11 Tage nach Injektion	253
Au ¹⁹⁸ i.p. Heterotransplantation: 1 Tag nach Injektion	88
5 Tage nach Injektion	256
Au ¹⁹⁸ i.v. Heterotransplantation: 1 Tag nach Injektion	109
5 Tage nach Injektion	150

Das Maximum der Tumorgrosse wurde bei allen behandelten Tieren zwischen dem 8. und 12. Tag nach der Transplantation erreicht. Bei allen mit radioaktiven Isotopen vorbehandelten Ratten wächst der Maustumor stärker als bei den Kontrollen. Bei grösserem Intervall zwischen Injektion von P³² oder Au¹⁹⁸ und der Heterotransplantation entwickelt sich der Tumor besser als bei kurzem Intervall. Nach intraperitonealer Goldinjektion entwickelt sich der heterolog transplantierte Tumor (bei fünftägigem Abstand zwischen Injektion und Implantation) besser als nach intravenöser Goldapplikation. Die Resultate zeigen, dass bei Behandlung der Wirtstiere mit recht verschiedenen Strahlungsarten die Heterotransplantation ermöglicht wird. P³² ist ein reiner β -Strahler, während Au¹⁹⁸ ein gemischter β - γ -Strahler ist. Ferner kann bei verschiedenster Verbreitung und Lokalisation der radioaktiven Isotope im Wirtsorganismus die Entwicklung des heterologen Tumors erfolgen. P³² wird besonders von Knochen, Knochenmark, Lymphdrüsen,

Leber, Milz, Niere und in geringem Masse von den meisten Geweben des Körpers aufgenommen. Kolloidales Au¹⁹⁸ wird bei intravenöser Applikation fast ausschliesslich vom retikuloendothelialen System gespeichert. Bei intraperitonealer Verabreichung bleibt Au¹⁹⁸ weitgehend in der Peritonealhöhle liegen¹. Die unterschiedliche Wachstumstendenz der Tumoren nach Vorbehandlung der Wirtstiere mit verschiedenen radioaktiven Isotopen, bei verschiedener Applikation und bei verschiedenem langem Intervall zwischen Injektion und Heterotransplantation erklärt sich wahrscheinlich durch die verschiedenartige Hemmung der Abwehrkräfte des Wirtsorganismus gegen den heterologen Tumor.

W. BOLLAG und CL. MEYER

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 25. Januar 1954.

Summary

The investigation deals with the successful heterologous transplantation of the Mouse Crocker-Sarcoma on young rats, that were pretreated with the radioactive isotopes P³² and Au¹⁹⁸. The growth tendency of the tumours varies according to the character of the radioactive isotope, the mode of administration and the interval between the injection of the radioactive substance and the heterotransplantation.

¹ J. H. MÜLLER, Gynaecologia 129, 289 (1950).

Sulphydryl Groups and Succinic Dehydrogenase in Rat Kidney after Administration of Mercurial Diuretics

Histochemical Studies

Recently we reported¹ that, when blue tetrazolium (BT) is used as a histochemical indicator, the administration of mercurial diuretics to rats inhibits the succinic dehydrogenase activity in kidney cells, particularly in the cells of HENLE's loops. By biochemical means, HANDLEY and LAVIK² previously demonstrated a fall in the total succinic dehydrogenase activity in rat kidney after administration of mercurials.

Sulphydryl groups are essential for the normal activity of succinic dehydrogenase. That the diuretic effect of mercurials, which combine with sulphydryl groups, is attributable to the sulphydryl-requiring enzymes seems probable since it is abolished by the administration of BAL, containing two sulphydryl groups³. The object of this study was to investigate whether the administration of mercurial diuretics influences the histochemically demonstrable sulphydryl groups in rat kidney.

Novurit "Medica" (39.5% Hg) was subcutaneously or intramuscularly administered in doses of 10 to 50 mg Hg/kg of body weight to 50 albino rats of the Wistar strain weighing 175–225 g. The rats were killed by decapitation 2–6 h after the administration of Novurit. In the demonstration of protein-bound sulphydryl groups the method of BARNETT and SELIGMAN⁴ was followed. The reagent, 2,2'-dihydroxy-6,6'-dinaphtyl disulfide, when used in excess at pH 8.5, reacts with

¹ K. K. MUSTAKALLIO and A. TELKKÄ, Science 118, 320 (1953).
² C. A. HANDLEY and P. S. LAVIK, J. Pharmacol. Exp. Therap. 100, 115 (1950).
³ R. F. PITTS and O. W. SARTORIUS, Pharmacol. Rev. 2, 161 (1950).
⁴ R. J. BARNETT and A. M. SELIGMAN, Science 116, 323 (1952).

¹ Die Arbeit erscheint *in extenso* in der Zeitschrift *Oncologia*.