



eine genügende Radioaktivität, um auch die Bruchstücke noch mit Sicherheit zu bestimmen.

Durch die Zugabe von methylmarkiertem Azetat zur Nährlösung haben wir ein  $\beta$ -Carotin erhalten, welches nach dem oxydativen Abbau radioaktive Essigsäure liefert. Nach der Decarboxylierung der gewonnenen Essigsäure findet sich die gesamte Aktivität in der Methylgruppe (als Methylamin  $\cdot$  HCl gemessen), während die COOH-Gruppe (gemessen als BaCO<sub>3</sub>) vollständig inaktiv ist.

Das  $\beta$ -Carotin, welches aus Kulturen, die sich in Gegenwart von carboxylmarkierter Essigsäure entwickelt haben, isoliert worden ist ergibt nach dem Permanganatabbau wiederum eine radioaktive Essigsäure. In diesem Falle aber finden wir die gesamte Aktivität in der Carboxylgruppe lokalisiert, während die Methylgruppe keinerlei Radioaktivität aufweist.

Diese Versuche haben eindeutig ergeben, dass die seitenständigen Methylgruppen der aliphatischen Kette des  $\beta$ -Carotins ausschliesslich aus der Methylgruppe der Essigsäure stammen. Die 4 benachbarten Kohlenstoffatome, welche in der aliphatischen Kette eingebaut sind, werden durch die Carboxylgruppe der Essigsäure geliefert. Durch das untenstehende Schema wird das eben Gesagte veranschaulicht.

Diese Arbeit ist mit Unterstützung der «Fritz-Hoffmann-La Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz» ausgeführt worden, der wir unseren besten Dank aussprechen.

E. C. GROB und R. BÜTLER

Botanisches Institut der Universität Bern, den 9. Februar 1954.

#### Summary

It has been demonstrated with labelled acetate, C<sup>14</sup>H<sub>3</sub>  $\cdot$  COONa, CH<sub>3</sub>  $\cdot$  C<sup>14</sup>OONa, that the methyl groups of acetic acid form the methyl groups of the chain between the two  $\beta$ -ionone rings of the  $\beta$ -carotene. The carboxylic groups of the acetic acid on the other hand form the neighbouring C-Atoms of the methyl groups.

#### Etude de la glucose-6-phosphatase dans la membrane chorioallantoïdienne traitée par des microsomes du foie

Les granules ribonucléoprotéiques du cytoplasme cellulaire, isolables par ultra-centrifugation, peuvent être comparés aux virus quant à la taille et à la composition chimique. Une telle comparaison se justifie mieux encore si on attribue aux microsomes une capacité d'autoduplication<sup>1</sup>.

Afin d'éprouver de façon directe cette hypothèse, SHAVER et BRACHET<sup>2</sup> ont tenté de «cultiver» à la surface de la membrane chorioallantoïdienne d'embryons de poulet, des granules extraits de tissus embryonnaires. Mais ils n'ont pu déterminer si la prolifération cellulaire et l'augmentation de basophilie, qu'ils ont observés dans 86% des cas, sont dues à une multiplication des petits granules dans les cellules de l'hôte ou à une simple stimulation de la synthèse de l'acide ribonucléique déjà présent. SHAW et SHAVER<sup>3</sup> ont, en outre, montré que le liquide surnageant de centrifugation, qui contient les microsomes, provoque une croissance plus intense que les mitochondries.

Afin de préciser si la prolifération cellulaire s'accompagne ou non d'une multiplication des microsomes inoculés, nous avons repris ces expériences en utilisant des microsomes du foie: ils se caractérisent, en effet, par la présence d'enzyme aisément dosable, la glucose-6-phosphatase<sup>4</sup>.

Les microsomes ont été isolés à partir de foies d'embryons de poulets et mis en suspension dans une solution de saccharose 0,25 M. L'activité de la glucose-6-phosphatase a été suivie dans les microsomes isolés à partir

<sup>1</sup> R. JEENER, Biochim. biophys. Acta 8, 270 (1952). – T. HULTIN, Exp. Cell. Res. 1, 376 (1950).

<sup>2</sup> J. SHAVER et J. BRACHET, Exper. 5, 235 (1949).

<sup>3</sup> E. I. SHAW et J. SHAVER, Exper. 9, 140 (1953).

<sup>4</sup> H. G. HERS, J. BERTHET, L. BERTHET et C. DE DUVE, Bull. Soc. Chim. biol. 33, 21 (1951).

des membranes traitées: elles étaient prélevées 1 h, 24 h et 48 h après l'inoculation. L'activité enzymatique a été exprimée en  $\gamma$  de phosphore libéré à 38°C en 15 min, par 10  $\gamma$  d'azote protéique des microsomes. Le phosphore a été dosé par la méthode de KUTTNER<sup>1</sup> et l'azote par la méthode de KJELDAHL, après minéralisation. Les membranes utilisées comme témoins ont été inoculées avec un même volume de la solution de saccharose seule.

Contrairement à notre attente, la glucose-6-phosphatase s'est montrée présente en faible quantité dans les microsomes de la membrane chorioallantoïdienne normale. Son activité diminue d'ailleurs fortement au cours du développement embryonnaire. Si on attribue une valeur de 100 % à l'embryon de 10 jours, l'activité tombe à 30–37 % après 11 jours et à 6–10 % après 12 à 13 jours.

Pour obtenir une mesure de l'activité enzymatique attribuable aux microsomes inoculés seulement, nous avons déduit de l'activité de la membrane traitée avec la suspension de microsomes la valeur trouvée pour la membrane témoin traitée en même temps. Voici l'essentiel des résultats obtenus:

- 1° L'activité enzymatique des microsomes diminue fortement au cours des 24 h qui suivent l'inoculation.
- 2° Dans cinq expériences sur six, l'activité de la phosphatase s'est montrée de deux à six fois plus élevée après 48 h qu'après 24. Dans le sixième cas, elle a continué à diminuer.
- 3° Une suspension de microsomes du foie, incubée stérilement à 38°C en tube à essai, perd la quasi-totalité de son activité phosphatasique en 48 h. L'autolyse ne provoque donc pas de libération de l'enzyme.
- 4° Une suspension de microsomes du foie portée à 80°C pendant 5 min perd son activité enzymatique et se montre incapable d'enrayer la chute de l'activité glucose-6-phosphatasique de la membrane chorioallantoïdienne. De même, quoi qu'elle soit capable d'activer la prolifération cellulaire de la membrane chorioallantoïdienne<sup>2</sup>, une suspension de *Tétrahymèna géléii*, tués par chauffage à 50°C, est sans effet sur l'activité phosphatasique des microsomes de la membrane (Tableau).

Nature de l'inoculum	Activités enzymat. en $\gamma$ P/10 $\gamma$ N		
	1 h	24 h	48 h
Microsomes du foie d'embryons de poulet . . . .	0,16	0,15	0,32
			0,37
	0,16	0,04	0,08
	0,75	0,11	0,34
Microsomes du foie chauffés à 80°C . . . . .	—	0,13	0,78
		0,008	—
			0,030
Suspension de <i>Tétrahymèna</i>	—	—	0,034
Témoin:			
solution de CHAMBERS. .	—	—	0,048
			0,082

Notons encore que les granules du foie perdent 75 % de leur glucose-6-phosphatase si on les laisse à 37°C pendant 1 h. Il est probable qu'une inactivation compa-

nable se produise lorsque les microsomes sont déposés sur la membrane: la faible activité que l'on retrouve après 1 h d'incubation témoigne sans doute d'une « dilution » des microsomes du foie, actifs, par ceux de la membrane qui le sont beaucoup moins. La diminution de l'activité se prolonge jusqu'à 24 h environ, et elle atteint alors de 93 à 97 %; la perte observée lors de l'autolyse d'une suspension de microsomes est de 96 % à ce moment-là.

L'augmentation d'activité de la phosphatase des microsomes de la membrane après 48 h est compatible avec une multiplication des particules inoculées à l'intérieur des cellules de la membrane.

En effet, la stimulation de la croissance de la membrane par un matériel dépourvu d'activité enzymatique ne suffit pas à provoquer la synthèse de la glucose-6-phosphatase dans les microsomes.

Les résultats acquis plaident donc en faveur de l'hypothèse d'une multiplication des microsomes au sein des cellules de la membrane chorioallantoïdienne; l'étude d'autres enzymes constitutifs des microsomes du foie nous paraît cependant indispensable avant qu'on ne puisse considérer cette hypothèse comme démontrée.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à M. A. LWOFF, qui a obligeamment mis à notre disposition la souche de *Tétrahymèna géléii* utilisée dans ce travail.

Mlle J. LE CLERC

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 20 février 1954.

Summary

In order to test the possibility for microsomes to multiply like viruses, microsomes of chick liver were inoculated on chorioallantoic membranes. The glucose-6-phosphatase activity, an enzyme located in the liver microsomes, was determined in the treated membranes. The activity decreased during the first 24 h after inoculation. It reached, after 48 h, from two to six times the value attained after 24 h.

A suspension of heated granules, or of heated *Tétrahymèna géléii*, though producing the same lesions of the membrane, did not increase the phosphatase activity of the microsome fraction after 48 h.

The present results are compatible with the idea that liver microsomes multiply by autoduplication.

L'absorption du facteur «L.E.» par des noyaux cellulaires isolés

Nous savons que le sérum de patients atteints de lupus érythémateux disséminé aigu peut contenir un facteur qui, mis en contact avec des leucocytes, provoque des altérations caractéristiques de ces cellules. Ces altérations consistent en une nucléolyse intracellulaire, en phagocytoses de corps nucléaires par des leucocytes polynucléaires surtout et en rosettes de leucocytes disposés autour des masses nucléaires. Il est possible que le facteur responsable de ce phénomène, appelé «L.E.» ou lupus érythémateux, soit une globuline ayant les caractères d'un anticorps antinoyau. Un sérum antinoyau humain, mis en contact avec des leucocytes humains, provoque en effet des altérations semblables à celles du phénomène L.E.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> P. MIESCHER, M. FAUCONNET et TH. BÉRAUD, J. Exp. Med. Surg. 11, 173 (1953).

<sup>1</sup> T. KUTTNER et COHEN, J. B. C. 75, 517 (1937).  
<sup>2</sup> R. A. FENNEL, J. Elisha Mitchell Soc. 67, 219 (1951).