

tion series. This duality can be resolved if, by an effect on the maturation spindle, the healthy haploids are androgenetic, and have arisen through the whole of the female chromosome complement entering the second polar body at fertilization, leaving only the sperm nucleus within the egg. A similar mass retention of all the maternal chromosomes in the egg is the most likely cause of triploid development, consequently the relation between the trypaflavine, colchicine, and spontaneous haploids and triploids can be explained by these mechanisms. If this hypothesis is correct, the haploid androgenetic development of mouse embryos is more successful than, and is more similar to its counterpart in the Amphibia¹ than is the haploid gynogenetic development obtained by the irradiations.

These results will be given elsewhere in detail.

This work has been supervised by Dr. R. A. BEATTY. The author wishes to thank Dr. G. G. SELMAN and Dr. T. C. CARTER for the use of the ultra-violet and X-ray apparatus respectively, and the University of Edinburgh for the receipt of a post-graduate studentship.

R. G. EDWARDS

Institute of Animal Genetics, Edinburgh, August 5, 1954.

Zusammenfassung

Nach Behandlung von Mäusesperma mit ultraviolettem Licht oder Röntgenstrahlen wurden bei vielen dreieinhalb Tage alten Embryonen von der Norm abweichende Chromosomensätze gefunden. Verschiedene waren haploid oder nahezu haploid; diese vermutlich durch Gynogenese entstandenen Embryonen waren gewöhnlich in ihrer Entwicklung zurückgeblieben. Behandlung der Spermatozoen mit Trypaflavin oder Toluindinblau führte zu ähnlich verzögerter Entwicklung, aber ohne klar beobachtbare Abnormalitäten des Chromosomensatzes. Es wird eine Theorie der gynogenetischen und androgenetischen Entwicklung von Mausembryonen aufgestellt, und mit ähnlichen Entwicklungstypen bei Amphibien verglichen.

¹ G. FANKHAUSER, Quart. Rev. Biol. 20, 20 (1945).

Action de la ribonucléase sur les cellules du carcinome d'Ehrlich

On sait que, d'après l'hypothèse de BRACHET¹, les acides ribonucléiques joueraient un rôle important dans la synthèse des protéines, la division cellulaire et le développement embryonnaire. Cette hypothèse nous a conduit à rechercher si la ribonucléase – enzyme spécifique de ces acides nucléiques – exerce une action sur la division des cellules. Au cours d'une série d'expériences portant sur des œufs d'Amphibiens en voie de segmentation, nous avons montré² que la ribonucléase réduite³ est seule active sur l'embryogénèse; la ribonucléase oxydée⁴ au contraire est absolument sans action. Rappelons que, dans ces expériences, des solutions extrêmement

diluées de ribonucléase réduite arrêtent la segmentation, tout en modifiant profondément les phosphorylations oxydatives des organismes traités¹. L'enzyme se révèle donc être un agent antimitotique extrêmement puissant.

Des résultats obtenus depuis, à l'aide de préparations de ribonucléase marquée par de l'iode 131², démontrent que les deux formes (oxydée ou réduite) de l'enzyme diffusent aisément à travers les membranes cellulaires des œufs de Batraciens.

Ces résultats permettaient d'espérer que l'on puisse, à l'aide de ribonucléase réduite, atteindre efficacement le métabolisme des cellules cancéreuses et agir sur leur multiplication.

Dans une première série d'expériences, nous avons étudié l'action de la ribonucléase sur des cellules carcinomateuses³ maintenues *in vitro*. L'action de l'enzyme sur le métabolisme de ces cellules a été suivie. Il ressort clairement de ces expériences que la ribonucléase pénètre dans les cellules et qu'elle agit rapidement sur l'acide ribonucléique qu'elles contiennent.

Les résultats obtenus montrent que le traitement des cellules par la ribonucléase ne modifie pas leur teneur en protéines; mais qu'elle abaisse considérablement leur respiration.

En ce qui concerne l'acide ribonucléique intra- et extra-cellulaire, on observe les phénomènes suivants en présence de ribonucléase réduite par rapport à des témoins traités par de la ribonucléase oxydée:

1° Au cours d'une première phase de l'action, il se produit une *synthèse importante* d'A.R.N. intracellulaire et une augmentation de la teneur en nucléotides libres. Parallèlement, la teneur en nucléotides libres du milieu extracellulaire (liquide d'ascite) diminue rapidement et dans les mêmes proportions.

2° La seconde phase consiste en une *dégradation rapide* de l'acide ribonucléique intracellulaire tandis que la teneur en nucléotides libres reste très élevée. Dans le milieu extracellulaire, on voit réapparaître des nucléotides libres; leur concentration augmente au cours du temps.

On peut conclure de ces faits que la ribonucléase réduite agit en provoquant, dans la cellule vivante, une synthèse importante d'acide ribonucléique et une augmentation de la teneur en nucléotides libres aux dépens du milieu extérieur. Il est vraisemblable que cette synthèse d'A.R.N. et cette accumulation de nucléotides déséquilibrent considérablement l'ensemble des métabolismes cellulaires (cette action semble d'ailleurs être irréversible). La dégradation ultérieure de l'A.R.N. intracellulaire peut s'interpréter comme une action nucléasique banale dans un organisme mort.

Rappelons que l'action de la ribonucléase comme catalyseur de la synthèse de l'A.R.N. vient d'être démontrée par HEPPÉL et WHITFIELD⁴: ils ont observé une synthèse *in vitro* de polynucléotides à partir de nucléotides cycliques, en présence de ribonucléase.

Les frottis des cellules prélevées à des temps d'incubation différents permettent, eux aussi, de retrouver l'évolution des phénomènes qui viennent d'être décrits: après coloration à l'UNNA, on voit que la basophilie est fortement altérée et qu'après un temps de latence, elle disparaît presque entièrement du cytoplasme. Les microphotos 1 et 2 donnent un exemple des résultats obtenus.

¹ J. BRACHET, Enzymologia 10, 87 (1941); *L'embryologie chimique* (Masson, Paris 1945).

² L. LEDOUX, J. LE CLERC et F. VANDERHAEGHE, Arch. intern. Physiol. 62, 303 (1954); Biochim. biophys. Acta (sous presse).

³ L. LEDOUX, Biochim. biophys. Acta 13, 121 (1954).

⁴ L. LEDOUX, Biochim. biophys. Acta 13, 121 (1954); 14, 267 (1954).

¹ L. LEDOUX, J. LE CLERC et F. VANDERHAEGHE, Arch. intern. Physiol. 62, 303 (1954); Biochim. biophys. Acta (sous presse).

² L. LEDOUX, J. LE CLERC et F. VANDERHAEGHE, Biochim. biophys. Acta (sous presse).

³ Ces cellules ont été obtenues en greffant un carcinome d'EHR- LICH dans le péritoine de souris.

⁴ L. A. HEPPÉL et P. R. WHITFIELD, Biochem. J. 56, 11 (1954).

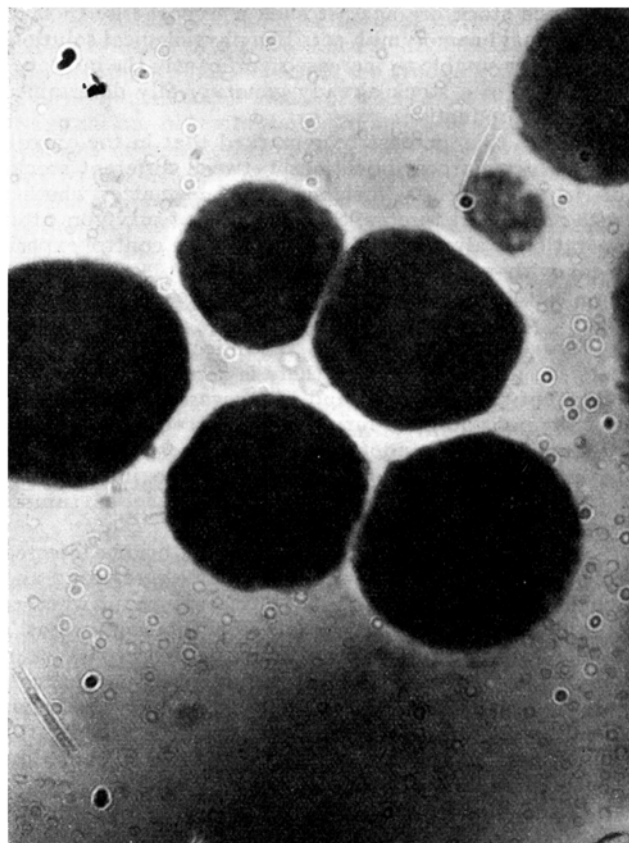


Fig. 1. Ribonucléase oxydée.

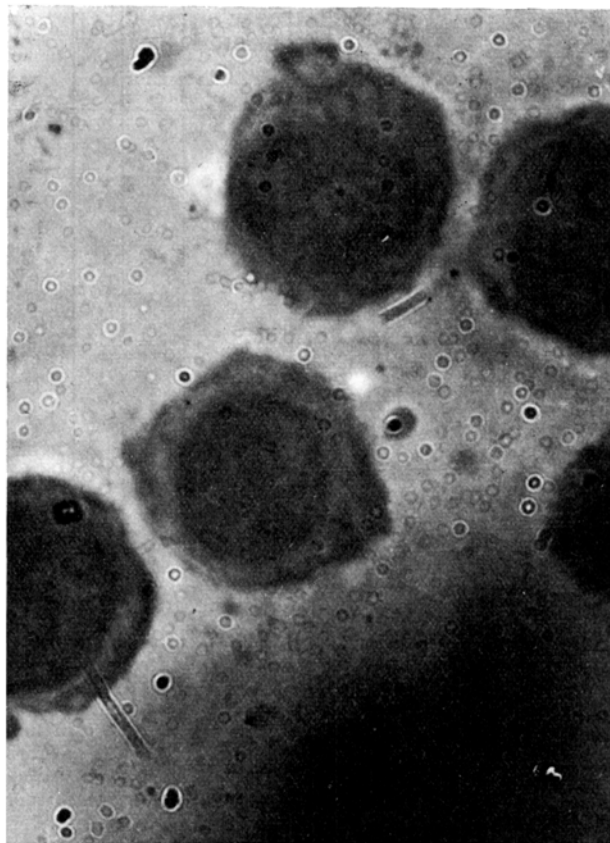


Fig. 2. Ribonucléase réduite.

Action de la ribonucléase sur les cellules du carcinome d'EHRlich (coloration d'UNNA).

Durée d'incubation: 20 min.

Soulignons que ces phénomènes s'observent pour des doses de ribonucléase réduite excessivement faibles tandis que, même à concentration élevée, la ribonucléase oxydée est sans effet sur les cellules étudiées ici.

L. LEDOUX¹ et E. BALTUS

Laboratoire de morphologie animale, Université libre de Bruxelles, le 2 juillet 1954.

Summary

The reduced form of ribonuclease acts on the cells of EHRlich's carcinoma by producing important changes in the RNA content of cells:

- (1) First, there is an important synthesis of intracellular RNA and an accumulation of free nucleotides (from the external medium). This phenomenon accompanies the necrosis of the cells.
- (2) After this first stage begins a rapid degradation of intracellular RNA.

Simultaneously, the respiration of cells decreases whilst protein content remains unchanged.

The oxidized form of ribonuclease has no action on the cells.

Production of Pseudotumors in *Drosophila*, after Injection of Haemolymph

Recently OFTEDAL¹ has shown that the blood cells are the active elements in the formation of pseudotumors² in *Drosophila*. He determined the stage of larval development when the first changes in the normal cells take place. These blood cells undergo a progressive process of melanization, and become able to aggregate into clumps of different size. Finally, they appear as spindle-shaped elements with no evident structure of the original cells. Besides, there is no connection between the neighbouring organs and these melanotic masses, which are often floating in the hemocoel. Accordingly, we devised a method to test the participation of the haemolymph in the production of pseudotumors by reciprocal injections between tumorless and tumor stocks.

The usual microinjection technique with thin glass needles was used. The following experiments were carried out:

- (1) injections of physiological solution (NaCl at 8‰) into larvae of a tumorless stock;
- (2) injections of haemolymph from two stocks with a different incidence of tumors into a normal stock;

¹ Aspirant du Fonds national belge de la Recherche scientifique.

¹ P. OFTEDAL, Z. Vererbungslehre 85, 408 (1953).

² The melanotic masses are here referred to as pseudotumors (see BARIGOZZI³), and "tumor" is used only as an abbreviation.

³ C. BARIGOZZI, Proc. IX. Int. Congr. Genetics (in press).