

Fig. 2.—Electronmicrograph of thin section of salivary gland chromosome of *Drosophila melanogaster*.  $\times 86,000$ .

The ultrathin section of chromosomes shows a fine structure of chromomeres, making the chromonemata appear obscure, because the thickness of an ultrathin section may be far less than the diameter of the chromonemata (Fig. 2). The most interesting aspect of this study is the evidence that the chromomere is composed of filaments coiled in a right-handed direction 100 Å in diameter with a periodicity of ca. 100 Å at the point marked by the arrow. The constituent, coiled filaments of the lamp brush chromosomes of amphibian oocyte nuclei reported by Ris<sup>5</sup> agree well with the present results in the dimension of filaments.

An attempt was made to determine on chromosomes squashed in acetic acid whether the helices in both chromonema and chromomere are coiled in a paranemic or plectonemic fashion. Full grown larvae of the wild type *Drosophila virilis* were used for this study. The salivary glands were squashed in a drop of 45% acetic acid and shadowed with chromium<sup>6</sup>. The specimens were photographed with a Siemens electron microscope model UM-100. The salivary gland chromosome has successfully been stretched following the squash method. The chromomeres and chromonemata have been fully stretched without being twisted at the points marked by the arrows (Fig. 3). But the chromomeres marked by A has failed to stretch, so that the chromat-in-threads are kept in a helical structure. The helix shows a periodicity of ca. 100 Å.

From these results it can be concluded that the constituent filaments of chromomeres and chromonemata

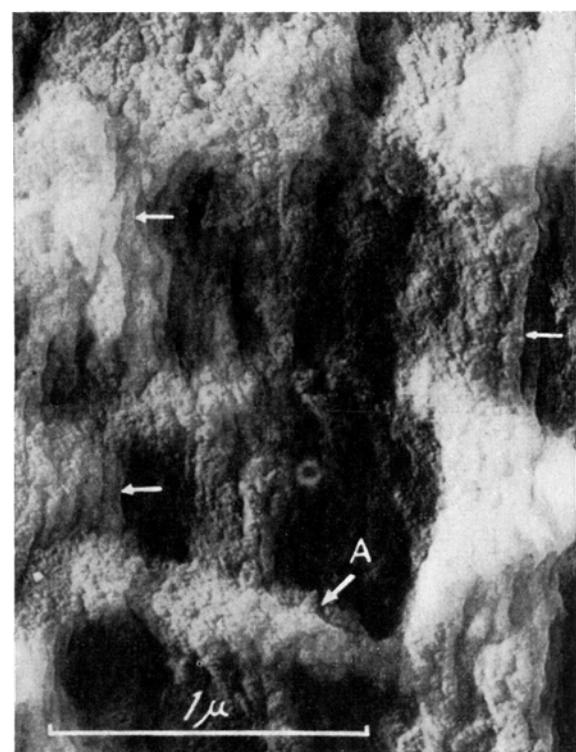


Fig. 3.—Electronmicrograph of squashed preparation of salivary gland chromosome of *Drosophila virilis*.  $\times 42,000$ .

are paranemically coiled and both filaments are coiled in an opposite direction<sup>7</sup>.

G. YASUZUMI

*The Electron Microscope Research Laboratory, Department of Anatomy, Nara Medical College, Kashihara (Japan), February 18, 1957.*

#### Zusammenfassung

An ultradünnen Schnittpräparaten von Speicheldrüsenschromosomen (*Drosophila melanogaster*) und an entsprechenden Quetschpräparaten (*Drosophila virilis*) wurde elektronenmikroskopisch festgestellt: Die Chromomeren und Chromonemata bestehen aus Filamenten mit Schraubenwindungen vom «paranämischen» Typus. Es ist wahrscheinlich, dass die Windungen der beiden Filamente in der entgegengesetzten Richtung ranken.

<sup>7</sup> G. COLOMBO, Exper. 11, 333 (1955). — G. GAMOW, Proc. Nat. Acad. Sci. 41, 7 (1955).

#### Versuch zum histochemischen Nachweis des Mucins in roten Blutkörperchen

Die spontane Elution des Influenzavirus von hämagglutinierten roten Blutkörperchen (RBK) wird dadurch erklärt, dass der Rezeptor für Influenzavirus ein Mucoproteid ist, welches während der Hämagglytination durch eine Mucinase der Viruspartikel enzymatisch zerstört wird. Die Voraussetzung dieser Annahme ist das veränderte Verhalten der mit  $\text{JO}_4$ -Ionen behandelten

<sup>5</sup> H. Ris, *Symposium on fine structure of cells* (Noordhoff, Groningen, Holland 1955), p. 121; J. biophys. biochem. Cytol. Suppl. 2, No. 4, 385 (1956).

<sup>6</sup> G. YASUZUMI and KEIKO ITO, J. Heredity 45, 135 (1954).

RBK dem Influenzavirus gegenüber<sup>1</sup>, das in folgender Weise gedeutet wird: die  $\text{JO}_4$ -Ionen oxydieren die Glykolbindungen im Mucin, oder Mucoproteid der RBK nach der von MALAPRADE<sup>2</sup> beschriebenen Reaktion, wodurch der Mucinase das Substrat entzogen wird; die spontane Elution des Virus ist daher gehemmt, die RBK bleiben agglutiniert.

Diese Ansicht wurde von mehreren Seiten einer fundamentalen Kritik unterzogen<sup>3</sup>, und auch BURNET äusserte<sup>4</sup> auf Grund der an submaxillarem Mucin und an Harnmucin erhaltenen Daten GOTTSCHALKS<sup>5</sup> jene Meinung, dass der der Virushämagglytination zugrundeliegende biochemische Vorgang nicht einer Mucinase-, wohl aber einer Amidasewirkung entspricht. Demnach sollte die vom Virus verursachte Veränderung an den zur Zeit ebenfalls hypothetischen Amidbindungen des Substrats entstehen. Ferner sei erwähnt, dass nach neueren Angaben von KLENK *et al.*<sup>6</sup> das Influenzavirus aus Harnmucin Neuraminsäure freisetzt. Dieselbe Forschergruppe konnte in den Stroma der RBK einiger Tierarten die Anwesenheit von Neuraminsäure nachweisen<sup>7</sup>. Schliesslich wurde auf Grund von serologischen Untersuchungen in Frage gestellt, ob das Substrat der  $\text{JO}_4$ -Ionenwirkung überhaupt der Virusrezeptor der RBK ist<sup>8</sup>.

Durch alle diese Angaben wird die Bedeutung der  $\text{JO}_4$ -behandelten RBK hinsichtlich der Erklärung der Virushämagglytination bzw. Elution in ein neues Licht gerückt.

Die Richtigkeit der Annahme, dass der Rezeptor der RBK der  $\text{JO}_4$ -Oxydation direkt zugängliche Glykolbindungen enthält, deren OH-Gruppen das  $\text{JO}_4$ -Ion zu Aldehydgruppen oxydiert, kann unmittelbar experimentell geprüft werden. Nach HOTCHKISS<sup>9</sup> und McMANUS<sup>10</sup> beruht nämlich der histochemische Nachweis des Mucins eben auf jener  $\text{JO}_4$ -Reaktion, auf Grund welcher der Virusrezeptor der RBK für Mucin oder für Mucoproteid gehalten wird. Wenn also die RBK auf ihrer Oberfläche durch  $\text{JO}_4$ -Ionen oxydierbare, freie Glykolgruppen enthalten, so müssen diese mit Hilfe des McManuschen Verfahrens nachweisbar sein.

Zu diesem Zwecke wurden sowohl in Alkoholdämpfen fixierte Aussstriche menschlicher, bzw. Schafs-RBK als auch Schnitte von in Paraffin eingebettetem Blutgerinnsel nach der Methode von McMANUS gefärbt, ohne Anwendung einer nachträglichen Kontrastfärbung. Die Präparate wurden 30 min bzw. 24 h lang<sup>11</sup> mit einer 0,5%igen  $\text{KJO}_4$ -Lösung (die zwecks vollständiger Lösung mit 10%iger HCl angesäuert wurde) behandelt. Zur Kontrolle des Schiffsschen Reagenten dienten gleichzeitig hergestellte und in derselben Weise behandelte Schnitte von in Paraffin eingebetteten, neugeborenen

Mäusen mit dem Unterschied, dass bei diesen Präparaten auch die McManussche Acetylierungsreaktion durchgeführt wurde.

Die Farbstoffkontrolle fiel in jedem Falle positiv aus. Gleichzeitig konnte bei der mikroskopischen Untersuchung in den RBK-Präparaten, von der histologischen Bearbeitung und der Zeitspanne der Behandlung unabhängig, keine für Mucin, bzw. Mucoproteid charakteristische, der positiven Schiffreaktion entsprechende karminrote Verfärbung beobachtet werden. Die Farbe der RBK war im allgemeinen blasser als die Farbe der nativen RBK und zeigte einen etwas graulichen Anflug.

Zur Bewertung dieser Angaben möchte ich erwähnen, dass nach meinen später mitzuteilenden, polarographisch ermittelten Daten der Gehalt der durch  $\text{JO}_4$ -Ionen oxydierbaren Substanzen in den RBK um mehrere Größenordnungen höher ist als die histochemisch nachweisbare Menge derselben Substanzen. Die serologische und histochemische Nachweisbarkeit ist dagegen, bekannterweise, von etwa derselben Größenordnung. Es kann daher mit Recht behauptet werden, dass die RBK und folglich auch der Rezeptor der RBK keine freie Glykol- oder primäre Aminoalkoholgruppen besitzt, die durch  $\text{JO}_4$ -Ionen zu Aldehyd oxydierbar sind. Diese Reaktion kann also kaum den chemischen Mechanismus der Veränderungen darstellen, die die  $\text{JO}_4$ -behandelten RBK dem Influenzavirus gegenüber aufweisen.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Ungarischen Akademie der Wissenschaften durchgeführt.

Für die technische Mitarbeit spreche ich Frau ELISABETH VARGA meinen besten Dank aus.

1. SZÉKÁCS

*Abteilung für Virusforschung, Staatliches Institut für Volksgesundheitswesen, Budapest (Ungarn), den 10. April 1957.*

#### Summary

The presence of groups directly oxydizable to aldehyde by means of  $\text{IO}_4$ -ions could not be proved histochemically in erythrocytes.

#### Détection cytochimique de l'acide ribonucléique dans les chromosphères pré- et post-méiotiques des sporanges de résistance d'*Allomyces*

Nous avons démontré cytochimiquement (tests ribonucléase, acide perchlorique, etc.) que le corps paranucléaire des gamètes et planozygotes d'*Allomyces* présente une accumulation cytoplasmique d'acide ribonucléique associé à des protéines sulfhydrilées<sup>1</sup>. Le corps paranucléaire des zoospores issues des zoosporanges (phase sporophytique du développement) présente les mêmes réactions cytochimiques que les gamètes.

Lors de leurs belles recherches sur la méiose chez *Allomyces*, EMERSON et WILSON<sup>2</sup> et WILSON<sup>3</sup> avaient observé l'apparition de chromosphères transitoires précédant la prophase méiotique et de chromosphères emboitant les noyaux post-méiotiques dans les sporanges de résistance de ce champignon. Ces chromosphères, de nature inconnue, étaient fortement colorées par l'orcéine acétique.

<sup>1</sup> G. TURIAN, C. r. Acad. Sci. 240, 2343 (1955); Protoplasma 47, 135 (1956).

<sup>2</sup> R. EMERSON et CH. M. WILSON, Science 110, 86 (1949).

<sup>3</sup> CH. M. WILSON, Bull. Torrey Bot. Club 79, 139 (1952).

<sup>1</sup> G. K. HIRST, J. exp. Med. 87, 301 (1948).

<sup>2</sup> L. MALAPRADE, Bull. Soc. chim. France 43, 683 (1928); 1, 833 (1934).

<sup>3</sup> W. F. GOEBEL, P. E. OLITZKY und A. C. SAENZ, J. exp. Med. 77, 445 (1948). — D. J. BAUER, *The nature of virus multiplication* (Univ. Press, Cambridge 1953), p. 54.

<sup>4</sup> F. M. BURNET, Dtsch. med. Wschr. 79, 737 (1954).

<sup>5</sup> A. GOTTSCHALK und P. E. LIND, Nature 164, 232 (1949); 167, 845 (1951); 172, 808 (1953). — A. GOTTSCHALK, Yale J. biol. Med. 26, 352 (1954).

<sup>6</sup> E. KLENK, H. FAILLARD und H. LEMPFRIED, Hoppe-Seylers Z. 301, 235 (1955).

<sup>7</sup> E. KLENK und H. WOLTER, Hoppe-Seylers Z. 291, 259 (1952). — E. KLENK und W. STOFFEL, Hoppe-Seylers Z. 303, 78 (1956).

<sup>8</sup> I. SZÉKÁCS, Exper. 13, 108 (1957).

<sup>9</sup> R. D. HOTCHKISS, Arch. Biochem. 16, 131 (1948).

<sup>10</sup> J. F. A. McMANUS, Nature 158, 202 (1946). — J. F. A. McMANUS und J. E. CASON, J. exp. Med. 91, 651 (1950).

<sup>11</sup> J. F. LHOTKA, Nature 171, 1123 (1953).