

Tableau II

Durée de contact avec la Simazine (h)	Exposition	% par rapport au témoin	
		production O ₂	utilisation O ₂
48	lumière	100% et plus	—
96	lumière	100% et plus	—
336	lumière	10%	—
336	obscurité	—	100% et plus

Comportement des cellules en présence de la Simazine

Etude descriptive. Lorsque les rameaux d'*Elodea* exposés à la lumière sont transportés dans la solution de Simazine, on constate l'arrêt immédiat du dégagement des bulles d'oxygène. A ce moment-là, l'observation cytologique ne révèle aucun changement des constituants cellulaires: les plastes ont un aspect normal, le mouvement de cyclose se poursuit régulièrement. Après 96 h aucun changement ne peut être décelé au niveau des cellules par la simple observation. Après 336 h, le bourgeon terminal étant en grande partie altéré, l'observation cytologique dans les tissus apparemment sains révèle que la cyclose ne se produit plus dans toutes les cellules; elle est intermittente ou ralentie, mais les chloroplastes sont encore normaux d'aspect.

D'autre part, l'observation des chloroplastes en lumière ultraviolette, après 336 h d'immersion dans la solution de Simazine, montre que la fluorescence persiste.

Etude histochimique. Des rameaux d'*Elodea* sont immergés d'une part dans une solution aqueuse de chlorure de triphényltétrazolium (TTC) à 0,1%, d'autre part dans une solution de TTC (0,1%) et de Simazine (2000 µg/l). Le TTC est réduit dans les cellules d'*Elodea* en présence de Simazine: le dérivé hydrogéné «Formazane», teinté de rouge, s'observe parfaitement, d'abord à la périphérie de la cellule, puis au niveau des chloroplastes. Il est important que cette hydrogénation, connue comme phénomène diastasique et due à l'action de déshydrases, puisse s'observer en présence de la Simazine. Ce fait, de même que la restauration précédemment décrite, tendent à montrer que la Simazine n'agit pas par blocage des systèmes déshydrasiques en action dans la cellule.

W. ROTH

Institut de Botanique, Strasbourg, le 2 décembre 1957.

Zusammenfassung

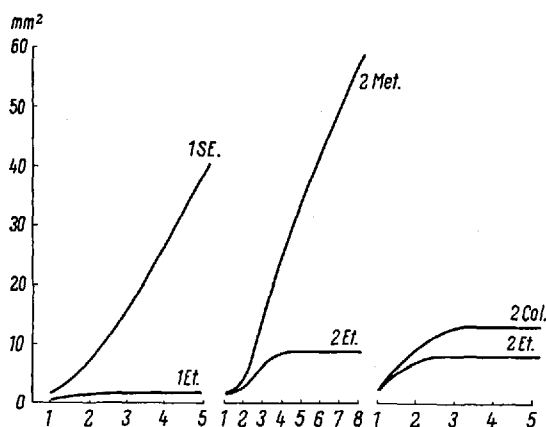
Durch Einwirkung von Simazin wird bei *Elodea* die Photosynthese gehemmt, der Sauerstoffverbrauch durch Atmung erhöht und keine Zerstörung der Zellbestandteile beobachtet. In Gegenwart von Simazin bleiben die Deshydrasesysteme der Zelle aktiv.

Metionina, etionina, colina nel metabolismo intermedio dei fibroblasti coltivati *in vitro*

L'azione antagonista e dismetabolica esplicita dall'etionina nei confronti della metionina, sia nella sintesi proteica che nel normale trasferimento dei metili labili, rende probabile un intervento diretto dell'antimetabolita sui processi dell'anabolismo cellulare. In queste ricerche noi abbiamo esaminato l'azione a livello cellulare dell'etionina, metionina e colina studiandone l'attività sul-

l'accrescimento dei fibroblasti in coltura *in vitro*, e cioè al di fuori di ogni possibile regolazione ormonica ed umorale.

Ci siamo serviti a tale scopo della tecnica di coltura in piastra secondo Carrel, aggiungendo l'etionina all'estratto embrionale utilizzato per l'allestimento sia della fase solida che di quella fluida di coltura, ad una concentrazione finale del 0,6 p. 100, e servendoci come espianto di stipti di fibroblasti dal tendine e dal cuore dell'embrione di pollo di sette giorni di incubazione, previamente intrattenuti in goccia pendente per 5-6 passaggi. All'atto dell'allestimenti delle piastre ciascun espianto veniva diviso in due parti per quanto possibili uguali, l'una delle quali veniva sottoposta all'azione dell'etionina e l'altra mantenuta come controllo. L'accrescimento è stato valutato misurando planimetricamente l'area coperta nei giorni successivi dalle colture e dai controlli.



Azione dell'etionina, metionina e colina sull'accrescimento *in vitro* dei fibroblasti dal cuore di pollo. Curve di accrescimento assoluto in presenza di solo estratto embrionale diluito al terzo (SE), di estratto addizionato rispettivamente del 0,6% di sola etionina (Et), e di quantità equimolecolari di metionina, ma senza etionina (Met), di etionina + colina aggiunte contemporaneamente alla medesima coltura (Col.). In ordinate: aree ricoperte dalle colture in mm²; in ascisse: giorni di coltura. Spiegazioni nel testo.

In tutti i casi l'aggiunta di etionina alla fase liquida di coltura nella concentrazione suddetta porta ad un rapido blocco dell'accrescimento cellulare: dal secondo, terzo giorno non si osserva più incremento di area in tutte le colture trattate. Gli elementi coltivati mostrano segni di sofferenza cellulare grave, con aree di migrazione molto rade, cellule stellate con prolungamenti ramificati, ampia infiltrazione lipidica dei pochi elementi migrati nel coagulo. L'accrescimento dei controlli in solo estratto ed in estratto addizionato di metionina è invece regolare ed uniforme, con ampie aree di migrazione, costituite da cellule stipate di forma fusata. Nei controlli in metionina si osserva una infiltrazione lipidica notevole degli elementi migrati. Gli espianti sottoposti contemporaneamente all'azione dell'etionina e della colina mostrano un iniziale recupero della capacità di accrescimento, che per altro è quantitativamente limitato e di breve durata.

L'etionina esplica dunque un'azione diretta sui processi dell'anabolismo cellulare, che negli elementi coltivati *in vitro* si estrinseca in un rapido blocco della migrazione e riproduzione cellulare. Tale blocco è riferibile all'attività dismetabolica dell'antagonista, e non alla concentrazione aminoacidica elevata del mezzo, dato che i tessuti espiantati tollerano bene quantità equimolecolari di metionina. L'incapacità della colina ad invertire l'inibizione pone il problema se il blocco sia da attribuire piuttosto ad un'inibizione dei meccanismi

della sintesi proteica, che ad una alterazione nel trasferimento dei metili labili.

La metionina appare perciò, almeno indirettamente, un fattore indispensabile di accrescimento dei tessuti coltivati *in vitro*, che necessitano di un regolare rifornimento e disponibilità dell'aminoacido libero, onde provvedere al ricambio e alla sintesi di nuovo protoplasma.

A. CESTARI, C. RIZZOLI e M. A. GLIOZZI

Istituto di Farmacologia e Terapia sperimentale e Istituto di Istologia e Fisiologia generale dell'Università di Bologna, 26 novembre 1957.

Summary

The administration of ethionin to tissue cultures of fibroblasts *in vitro* causes a rapid and total inhibition of the growth of the transplanted tissues.

It was observed that equimolar quantities of methionin are, on the contrary, well tolerated. The inhibition is therefore seen to be due to the dismetabolic activity of the antagonist.

The contemporary administration of cholin is not able to restore the growth capacity of ethionin inhibited tissue cultures.

In conclusion, ethionin produces a direct action on fibroblasts *in vitro*, probably intervening in the process of protein synthesis of the transplanted elements.

An Attempt to Transfer Tumor Protein Specificity to a Foreign Protein

In the present work, an attempt was made to obtain chicken antibodies possessing some combining groups characteristic of proteins of the Jensen sarcoma of the rat. The procedure was to obtain a rabbit antiserum to the Jensen sarcoma and then a chicken antiserum in response to injections of this rabbit antiserum. If the chicken antibodies contained combining groups similar to tumor proteins, then injection of these antibodies into rats might possibly offer a means for the host to produce its own antibodies against these tumor specific determinate groups. These modified chicken serum proteins would be expected to be antigenic in the rat whereas the tumor proteins themselves are apparently not antigenic. Such a system might allow a specific means of inhibiting tumor growth.

Materials and Methods.—Bits of the Jensen sarcoma were excised from rats, washed thoroughly in saline, homogenized, and a 5% suspension of this preparation was serially injected intravenously into rabbits on alternate days, in 0.5 ml, 1.0 ml, and 1.5 ml doses. Following a one week rest period, the rabbits were given a further injection of 1.0 ml of the antigen and 48 h later the serum was collected. This antiserum reacted with the antigen at an antiserum dilution of 1:1000. After absorption with normal rat serum, this antiserum still had a titer of 1:128 with the supernate of the Jensen sarcoma, but gave no reaction with normal rat liver, kidney or muscle supernates. The γ globulin fraction of the antiserum was collected by ammonium sulfate precipitation. After dialysis against physiological saline to remove ammonium sulfate, three intravenous injections of 2.0 ml each of the rabbit γ globulin fraction were administered to chickens

on alternate days. The chicken serum which was collected 10 days after the last injection had an antiserum dilution titer of 1:512 when reacted against the rabbit γ globulin fraction. The diffusion gel technique described by OUCHTERLONY¹ was used to test for any similarity between the tumor antigen preparation and the chicken antiserum.

Results.—The soluble supernate of the tumor showed only one precipitate line for the reaction with the rabbit γ globulin fraction, while the chicken antiserum showed two precipitate lines for the reaction with the rabbit γ globulin fraction. However, the precipitate lines from these two sets of reactions crossed and did not show the reaction of identity (BJÖRKLUND²), thus indicating that the tumor antigen and the chicken antibodies did not share any similar combining groups.

Apparently the antibodies formed by the chicken in response to rabbit antibodies against the Jensen sarcoma are primarily directed against the rabbit serum protein, rather than to any of its combining groups which have a complementary configuration to determinate groups of the proteins of the Jensen sarcoma. These results are somewhat similar to those of SMITH and MARRACK³ with another serological system.

This work was supported by Cancer Research Funds of the University of California.

D. E. ROUNDS and R. A. FLICKINGER

Department of Zoology, University of California, Los Angeles, January 1, 1958.

Résumé

L'essai de transférer la spécificité des protéines d'une tumeur à une protéine étrangère par un procédé sérologique, a donné un résultat négatif.

¹ Ö. OUCHTERLONY, *Lancet* 256, 364 (1949).

² B. BJÖRKLUND, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 79, 319 (1952).

³ F. C. SMITH and J. MARRACK, *Brit. J. exp. Path.* 11, 494 (1930).

Comportement nucléaire anormal dans la racine d'*Ornithogalum umbellatum* L.

Une étude générale portant sur les aspects cytologiques observables par suite d'altérations du matériel chromatique nous a conduit à prospecter, parmi les Liliacées, le genre *Ornithogalum*. Il est largement représenté en Alsace où cinq espèces ont été décrites. *Ornithogalum caudatum* Ait. cultivé en serre a également fait l'objet de notre étude et nous a montré des phénomènes d'agglutination au niveau des anthères, dans les cellules-mères. Sur *Ornithogalum umbellatum*, en station naturelle, nous avons vu l'agglutination dans les cellules-mères de pollen, et la recherche du nombre chromosomique a donné respectivement 43 et 46 unités, dans des plantes de même provenance (l'existence de nombres divers dans cette espèce est d'ailleurs connue)¹. (Fig. 1.)

Après étalement de pointes de racines et coloration au carmin ferrique, nous avons observé un comportement

¹ J. DE B. NEVES, cité par C. D. DARLINGTON et A. P. WYLIE, *Chromosome Atlas of Flowering Plants* (Allen and Unwin Ltd., London 1955), p. 351.