

No. of exper- iment	Age in months	Tension in g			
		1st heating 65°C	2nd heating up to 75°C	Sum	Total tension with direct heating
24	5	3.0	1.9	4.9	4.1
10	9	3.4	2.0	5.4	5.5
11a	29	4.7	4.5	9.2	9.9
11b	29	4.0	5.0	9.0	9.1
25	40	5.0	4.3	9.3	9.3

of course, only be measured on another fibre of similar diameter. (There is a small source of error here, and the slight differences between the sum of the two part tensions and the maximal tension seen in the Table are due to this fact.)

The remaining tension which exists after the first heating to 62–65°C can, when not loaded (or only with 0.1 g), give the complete thermic contraction which we described at the beginning. Thus the phenomenon can be explained by assuming that the heating only gradually destroys the

crystalline structure of the collagen macromolecule, and, as long as some of it remains, maximal contraction (shrinkage) of unloaded fibres appears on heating<sup>3</sup>.

**Zusammenfassung.** Die Wärmekontraktion der Collagenfaser kann durch ein Gewicht verhindert werden. Nach Entlastung gibt eine solche Faser bei Erwärmung eine maximale Wärmekontraktion (Schrumpfung). Das erklärt sich aus Spannungsmessungen mittels einer «isometrischen Methode». Erwärmung bis 62–65°C bewirkt nur einen Teil der Spannung. Die Restspannung wird erst erreicht, knapp bevor die Faser bereits zu erschlaffen beginnt. Die Restspannung erklärt, dass eine unbelastete Faser auch nach einer vorangehenden Erwärmung noch eine maximale Wärmekontraktion zeigt.

F. VERZÁR

*Gerontologisches Institut Basel (Switzerland), May 17, 1962.*

<sup>3</sup> This work was made with the support of the Muscular Dystrophy Association of America.

### Effekt der Perjodsäure auf die Erythrocytenmembran

HIRST und HOTCHKIS<sup>1</sup> beobachteten, dass Kaliumperjodat hämagglutinierende Virusrezeptoren in der Kälte beseitigt, woraus sie die Schlussfolgerung zogen, dass Kohlenhydrate angegriffen werden. Die mit m/100 Kaliumperjodat behandelten Erythrozyten werden nach STEWART<sup>2</sup> fast durch alle Seren agglutiniert; dieses Phänomen betrachtete er als eine besondere Art der Panagglutination. AMINOFF und MORGAN<sup>3,4</sup> beschrieben, dass das Perjodat-Ion die endständigen *L*-Fukose- und *d*-Galaktosegruppen der menschlichen A-Substanz vollständig, Chondrosamin teilweise oxydiert.

Perjodsäure wird für ein selektiv wirkendes Oxydationsmittel gehalten, welches die C-C-Bindungen bei zwei Hydroxyl-Ionen oder bei einem Hydroxyl-Ion und einer benachbarten primären oder sekundären Aminogruppe spaltet. Der Effekt des m/200 bis m/1000 Natriumperjodats auf Erythrozyten bei pH 4 bis 7 wurde von MORGAN und WATKINS<sup>5</sup> ausführlich studiert. Bei höherer Konzentration des Perjodat-Ions und bei niedrigem pH wird die serologische Aktivität aller Blutgruppensubstanzen aufgehoben. Vorsichtigere Behandlung inaktiviert elektive die M-, N-, D-Faktoren; A-, B-, H- und Le<sup>a</sup> sind resistenter. MORGAN und WATKINS halten es nicht für zulässig, auf Grund von Perjodat-Ion-Inaktivierung die Kohlenhydratnatur der untersuchten Substanz anzunehmen, weil auch  $\alpha$ -Glykol,  $\alpha$ -Aminoalkohol und eine Reihe von Aminosäuren durch Perjodat-Ion oxydiert werden.

Wir fanden in der Literatur keinen Bericht über den Effekt der Perjodsäure auf Erythrocytenmembranen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die aus nativen und aus trypsinisierten<sup>6</sup> Erythrozyten hergestellten Membranen bei verschiedenen Konzentrationen der Perjodsäure phasenoptisch vergleichend zu untersuchen. Die phasenoptische Untersuchung der zweierlei Membranen ergab in verschiedenen Konzentrationen der Neutralsalze in einer früheren Arbeit unerwartete Unterschiede<sup>7</sup>.

**Technik.** 16% HJO<sub>4</sub> Grundlösung wurde in 11 Röhrchen mit destilliertem Wasser in Zweierpotenzen verdünnt und

in ana Vol. mit Membransuspension vermischt. Auf das Gesamtvolumen berechnet betrug die HJO<sub>4</sub>-Konzentration von m/2 bis weniger als m/1000. Die Dichte der Mem-



Fig. 1. Native Membranen.



Fig. 2. Trypsinisierte Membranen.

<sup>1</sup> G. K. HIRST and R. D. HOTCHKIS, J. exp. Med. 86, 55 (1947).

<sup>2</sup> F. S. STEWART, J. Path. Bact. 61, 456 (1949).

<sup>3</sup> D. AMINOFF and W. T. J. MORGAN, Biochem. J. 44, 21 (1949).

<sup>4</sup> D. AMINOFF and W. T. J. MORGAN, Biochem. J. 48, 74 (1951).

<sup>5</sup> W. T. J. MORGAN and W. H. WATKINS, J. exp. Path. 32, 34 (1951).

<sup>6</sup> J. A. MORTON and M. M. PICKLES, Nature 159, 779 (1947).

<sup>7</sup> J. TOMCSIK und M. SCHERRER-GERVAT, Path. Microbiol. 24, 945 (1961).

bransuspension wurde so gewählt, dass im feuchten Präparat auf ein Gesichtsfeld des Phasenkontrastmikroskopes (Wild; 85×10) ca. 50 Erythrocytenmembranen fielen. In der Regel wurden 2 Ösen der untersuchenden Suspension mit der Öse an der Oberfläche des Objekträgers verteilt. Die nativen und «trypsinisierten» Membranen wurden nach unserer früheren Methode hergestellt<sup>1</sup>.

**Resultate.** Die Perjodsäure löste bis m/500 eine Säureagglutination und eine deutliche optische Verdickung des Randes der Erythrocytenmembranen aus. Die «trypsinisierten» Membranen verhielten sich diesbezüglich ähnlich, aber sie waren etwas kleiner. Ein unerwartetes Phänomen ergaben die nativen Membranen. Sie zeigten im Innern der agglutinierten Massen oder in brückenähnlichen Verbindungen zwischen den Agglutinaten sehr lange spindel-, ziegel- und fadenförmige Auszüge, wie in den Mikrophotographien (Figur 1 und 2) ersichtlich ist.

Auszüge konnten in mit Perjodsäure ähnlich behandelten «trypsinisierten» Erythrocytenmembranen in zahlreichen parallelen Untersuchungen selten beobachtet werden, wie die Tabelle zeigt.

Morphologische Einwirkung von  $HJO_4$  auf Rinder-Erythrocytmembranen (spindel-, ziegel-, fadenförmig ausgezogene Membranen)

Vorbehandlung der Erythrocyten vor der Herstellung der Membranen	Zahl der Versuche	Keine; fragile Reaktion	Schwache Reaktion	Starke Reaktion
keine Trypsin	17	1	6	10
Trypsin	10	8	2	0

Ausgezogene Membranen kamen bei den nativen Membranen, in der Regel in mehreren Präparaten einer Versuchsreihe, bei m/2 bis m/500  $HJO_4$  vor. Da diese Reaktion aber in manchen Präparaten ausblieb, musste die Rolle eines mechanischen Faktors – bei der Herstellung der Präparate – angenommen werden. Verschiedene mechanische Einwirkungen wurden vergleichend untersucht. Schütteln mit normalen Glaskügelchen und mit «ballo-tini» in der Schüttelmaschine bzw. im elektromagnetischen Vibrator (Mickle) förderte die Reaktion; Ultraschallbehandlung zerstörte die Membranen. Zweifellos erschienen weniger «Auszüge», wenn die Suspension an die Oberfläche des Objekträgers mit Kapillarpipette anstelle von Öse aufgetragen und verteilt wurde. Der quantitativ deutliche Unterschied zwischen nativen und trypsinisierte-

ten Erythrocytenmembranen blieb bei allen Versuchsanordnungen erhalten. Ähnliche Resultate wurden auch mit Menschen- und Schaf-Erythrocytenmembranen erhalten.

**Diskussion.** Der eine von uns nahm auf Grund serologischer Beobachtungen an proteolytisch vorsichtig vorbehandelten Erythrocyten an, dass – im Gegensatz zu früheren Auffassungen – die Oberfläche mit einer lockeren Proteinschicht bedeckt ist<sup>2</sup>. Diese Schicht soll in der grössten Mächtigkeit an der Oberfläche der Rindererythrocyten vorkommen; sie verhindert sterisch die Brückebildung der Antikörpermoleküle mit den Antigenen bzw. mit den Haptenen, die mit den Proteinen der tiefer liegenden semipermeablen Membran gekoppelt sind. Auf Grund der vorliegenden Arbeit ist anzunehmen, dass  $HJO_4$  mit der lockeren Proteinschicht der Membranoberfläche reagiert, wodurch diese fadenförmig ausziehbar wird und dadurch indirekt sichtbar gemacht werden kann. Die seltene, morphologisch ähnliche  $HJO_4$ -Reaktion der «trypsinisierten» Erythrocyten wäre darauf zurückzuführen, dass die die Oberfläche der Membran bedeckende lockere Proteinschicht nicht bei jeder Trypsinbehandlung restlos entfernt wird.

COFFIN und PICKLES wiesen nach<sup>3</sup>, dass ein Teil der durch Perjodat «zerstörten» D- und S-Antigene durch Trypsinbehandlung der Erythrocyten zu aktivieren ist. Im Lichte der in dieser Arbeit berichteten Befunde kann auch die Frage gestellt werden, ob in den Arbeiten mit «intakten» Erythrocyten jede scheinbare Inaktivierung der Blutgruppensubstanzen auf eine oxydierende Wirkung des Perjodations zurückzuführen ist, oder aber auch eine sterische Hemmung infolge der Reaktion des Perjodations mit der lockeren Proteinschicht der Membranoberfläche eine Rolle spielt<sup>4</sup>.

**Summary.** M/2 up to M/500  $HJO_4$  produces a very peculiar ductility of native erythrocyte membranes, whereas a similar effect is hardly observed on the membranes of trypsin-treated erythrocytes. This observation demonstrates indirectly, probably for the first time, the morphological existence of a loose protein-layer assumed by one of the authors to be present on the surface of erythrocytes<sup>5</sup>.

MARIANN SCHERRER-GERVAI und J. TOMCSIK

Hygiene-Institut der Universität Basel (Schweiz), 10. April 1962.

<sup>1</sup> J. Tomcsik, Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 16, 185 (1960).

<sup>2</sup> S. F. COFFIN and M. M. PICKLES, J. Immunol. 71, 177 (1953).

### Isolierung und Charakterisierung einer Proteinsubstanz der Erythrocytenoberfläche

MORTON und PICKLES<sup>1</sup> haben beobachtet, dass die Erythrocyten bei schonender proteolytischer Behandlung partiell verdaut werden können, ohne Hämolyse zu erleiden. Die so behandelten Erythrocyten verhielten sich bei der Hämagglutination wesentlich anders als die nicht behandelten. PONDER<sup>2</sup> nahm an, dass durch Trypsinbehandlung der Erythrocyten das Trypsin an der Oberfläche als eine monomolekulare Schicht aufgelagert wird; diese Auflagerung soll in einer späteren Phase zur Auflockerung der Oberfläche führen. TOMCSIK<sup>3</sup> entwickelte

die Hypothese, dass die an der Oberfläche liegende, bei manchen Erythrocyten mächtige, lockere Proteinschicht bereits durch eine kurze enzymatische Verdauung entfernt wird; dadurch werden gewisse enzymresistente Antigenmizellen ohne enzymatischen Abbau der semipermeablen Membran freigesetzt. KLENK et al.<sup>4</sup> beschrieben, dass vom lipoidfreien Bestandteil der Proteine des Rindererythro-

<sup>1</sup> J. A. MORTON und M. M. PICKLES, Nature (Lond.) 159, 779 (1947).

<sup>2</sup> E. PONDER, Blood 6, 350 (1951).

<sup>3</sup> J. TOMCSIK, Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 16, 185 (1960).

<sup>4</sup> E. KLENK und W. STOFFEL, Hoppe-Seylers Z. 303, 78 (1956).