

the observation of MOORE and MAYER⁹ who reported that ram spermatozoa did not possess the enzymes necessary for the hydrolysis of α - and β -glucosidic linkages. The possible explanation of the results obtained by MACLEOD could be that unwashed spermatozoa were used in the studies reported by him. It is known that by mere centrifugation spermatozoa cannot be completely freed from seminal plasma. So the maltase present in the seminal plasma adhering to unwashed spermatozoa must have hydrolysed the maltose. We found that washing the spermatozoa twice with saline deprived them of their maltase activity indicating that seminal plasma was removed by this treatment.

The detection of maltase activity in human semen is of considerable importance since we have observed that human semen contains appreciable amounts of carbohydrate as glycogen from 0.14 to 5.5 mg/ml. Glycogen would be converted to maltose by amylase which is known to be present in human semen (KARASSIK³). Further hydrolysis of maltose by maltase would result in the formation of utilisable sugar, glucose. Thus it seems that maltase may play an important role in the glycolytic metabolism of human spermatozoa. Further work on the purification and properties of seminal maltase will be reported elsewhere.

Résumé. Nous avons étudié l'activité de la maltase dans la semence humaine en utilisant la technique de la chromatographie sur papier. L'activité de la maltase est exprimée en mg de glucose libéré du substrat de maltose. L'activité de la maltase est spécialement associée avec le plasma séminal. Elle est maximale au pH 5.0. Nous avons aussi étudié les activités de la maltase dans des plasma séminaux des êtres humains, des bœufs, des coqs et des lapins. Nous avons trouvé que l'activité de la maltase est la plus haute chez l'homme. En comparaison avec les autres substrats de sucre, l'activité du plasma séminal se montre plus haute dans la maltase.

A. R. SHETH and SHANTA S. RAO¹⁰

Reproductive Physiology Unit, Indian Cancer Research Centre, Parel, Bombay (India), April 16, 1962.

⁹ B. H. MOORE and D. T. MAYER, Thesis for degree of Ph.D. Univ. of Missouri, Columbia (1955). As cited by D. T. MAYER in Michigan State Univ. Centennial Symp. *Reproduction and Fertility* (1957).

¹⁰ *Acknowledgment.* It is a pleasure to acknowledge the help and guidance of Dr. V. R. KHANOLKAR, Director, Indian Cancer Research Centre, during the course of these studies.

Spécificité de l'antigène tumoral décelé dans le foie de rat porteur d'une tumeur de Walker¹

Certains auteurs ont voulu associer l'antigène tumoral, que nous avons détecté dans le foie du rat porteur de la tumeur de Walker²⁻⁵, au facteur protéique du sérum que DARCY⁶ et HEIM⁷ ont découvert dans le sang de rats soit nouveau-nés, soit en gestation, soit porteurs de tumeurs. Ce facteur sérique relié à la reproduction et à la synthèse tissulaire n'est évidemment pas spécifique au cancer.

Aussi, il nous a semblé important de faire des études systématiques de comparaison du comportement antigénique du foie provenant d'animaux dans différents états biologiques et pathologiques; soit du foie de rats embryonnaires, nouveau-nés, en gestation et hépatectomisés (conditions biologiques) et porteurs de la greffe tumorale, d'une arthrite à la formaline et d'inflammation aigüe (conditions pathologiques).

Matériel et Méthodes. 28 rats mâles et femelles de souche Fisher inbred 344 provenant de l'élevage Charles River, Brooklyne, Mass., U.S.A., ont été distribués également en 7 groupes suivants dont chacun représente un état physiologique ou pathologique déterminé: (1) rats à l'état embryonnaire; (2) rats nouveau-nés; (3) rattees gestantes; (4) rats partiellement hépatectomisés depuis 72 h; (5) rats porteurs d'une tumeur de Walker transplantée par voie intramusculaire depuis 15 jours; (6) rats atteints de l'arthrite à la formaline, provoquée expérimentalement depuis 6 jours; (7) rats ayant reçu une injection d'huile de croton dans une poche d'air dorsale depuis 6 jours et qui sont alors marqués par une inflammation aigüe.

Tous les animaux sont sacrifiés par décapitation. Le foie est soigneusement perfusé avec une quantité abondante de sérum physiologique jusqu'à disparition complète des traces de sang. La pesée faite, on procède ensuite à une homogénéisation automatique à une vitesse de 24 000 tours à la minute, à l'aide d'une solution saline isotonique de NaCl dans la proportion 1:2 (1 g de tissu

pour 2 ml de solution saline). L'homogénéisat est ensuite soumis à une centrifugation réfrigérée à 60 000 g pour 1 h. Le surnageant ainsi obtenu constitue l'extrait hépatique soluble dont nous déterminons immédiatement la concentration en azote protéique par microkjeldahl. Nous rajustons alors la concentration protéique, si nécessaire, à l'aide de la solution saline isotonique, de façon telle qu'elle soit la même pour tous les extraits hépatiques.

La fabrication de l'immunsérum antitumeur chez le lapin se produit par suite des injections alternatives, par voie intraveineuse, intramusculaire et intrapéritonéale, des extraits lyophilisés d'une tumeur de Walker suivant les détails indiqués dans une publication antérieure². Pour débarrasser les anticorps non spécifiques, formés à partir des impuretés dans l'extrait tumoral, nous avons procédé à une absorption en série de l'immunsérum, d'après la technique de HEIDELBERGER et KENDALL⁸, à l'aide des petites quantités d'extrait soluble de foie normal. L'immunsérum ainsi purifié est utilisé dans la détection de l'antigène tumoral.

Nous nous sommes servi de l'immunoélectrophorèse telle que décrite par GRABAR et WILLIAMS⁹, pour étudier la spécificité et la nature de l'antigène tumoral décelé dans le foie de rat porteur d'une tumeur de Walker.

¹ Travail subventionné par l'Institut du Cancer du Canada.

² D. DUFOUR et D. B. LINH, *Rev. Immunol.* 25, 64 (1961).

³ D. DUFOUR, D. B. LINH et P. LINDSAY, *Rev. Franç. Et. clin. biol.* 2, 179 (1962).

⁴ D. DUFOUR, D. B. LINH et P. LINDSAY, *Bull. Cancer* 48, 455 (1961).

⁵ D. DUFOUR, D. B. LINH, M. DEMERS et P. LINDSAY, *Rev. Franç. Et. clin. biol.* 5, 467 (1961).

⁶ D. A. DARCY, *Brit. J. Cancer* 11, 137 (1957).

⁷ W. G. HEIM, *Nature* 184, 491 (1962).

⁸ M. HEIDELBERGER et F. E. KENDALL, *J. exp. Med.* 61, 559, 563 (1935).

⁹ P. GRABAR et C. A. WILLIAMS, *Biochem. biophys. Acta* 17, 67 (1955).

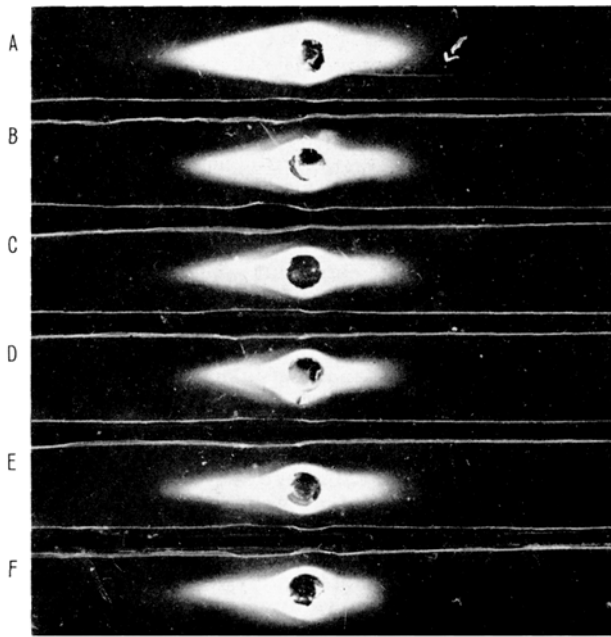


Fig. 1. Immunoélectrophorèse comparée, développée entre l'immunsérum de lapin antitumeur de Walker (cuves longitudinales) et les extraits solubles du foie de rat porteur de la tumeur (A), de rat normal (B), d'embryon de rat (C), de rat nouveau-né (D), de rate gestante (E) et de rat partiellement hépatectomisé (F).

A noter que l'antigène tumoral apparaît uniquement dans le foie de rat porteur de la tumeur de Walker (voir flèche).

Nous avons aussi employé la méthode de précipitation par double diffusion en milieu gélifié¹⁰ dans les études préliminaires pour déceler la présence de cet antigène spécifique.

Résultats. Tous les extraits solubles hépatiques provenant du groupe 5, c'est à dire, des rats porteurs d'une tumeur de Walker depuis 15 jours, réagissent positivement, à la réaction de précipitation par double diffusion en milieu gélifié, avec l'immunsérum antitumeur purifié; par contre aucun précipité n'a été décelable avec les extraits hépatiques provenant d'autres groupes. La Figure 1 et 2 démontre indiscutablement que seul l'extrait hépatique soluble de rat porteur d'une tumeur de Walker possède une relation antigénique étroite avec l'immunsérum antitumeur purifié, aucune des conditions physiologiques et pathologiques illustrées dans l'expérience n'a laissé voir une seule trace de cette antigénicité. L'immunoélectrophorèse a, en outre, éclairci la nature albuminoïde de l'antigène tumoral décelé.

Discussion. Cette recherche montre donc indiscutablement la haute spécificité à la tumeur de Walker de cet antigène hépatique. Il n'est en effet présent que chez le rat

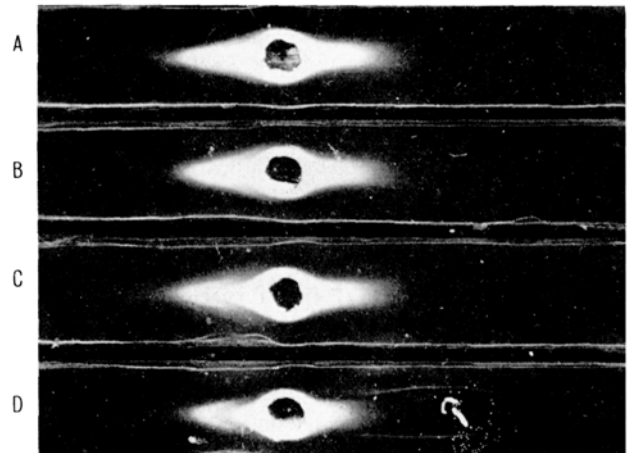


Fig. 2. Immunoélectrophorèse comparée, développée entre l'immunsérum de lapin antitumeur de Walker (cuves longitudinales) et les extraits protéiques solubles du foie de rat normal (A), de rat arthritique (B), de rat porteur d'une inflammation aiguë (C) et de rat porteur de la tumeur de Walker (D).

A noter que seul l'extrait hépatique soluble de rat porteur de la tumeur possède la réactivité antigénique spécifique (voir flèche).

porteur de la greffe tumorale. Ceci le dissocie donc du facteur protéique du sérum de DARCY⁶ et HEIM⁷ et probablement aussi du facteur hépatique de SAYRE et al.¹¹, facteur qui jouerait un rôle dans la croissance tissulaire et la différenciation.

Etant donné, cependant, l'hétérogénéité de la tumeur de Walker, il se pourrait que cet antigène en soit la signature et corresponde à une réaction d'incompatibilité. Aussi nous avons entrepris des recherches avec d'autres tumeurs isologues dans le but d'éliminer cette limitation¹².

Summary. By means of systematic comparative immunoelectrophoretic analysis, it has been shown that the antigenic material appearing in the liver of a Walker tumour bearing rat is highly specific to the tumour. In fact we have been unable to detect such an antigen either in embryonic neonatal, regenerating or in the liver of acute inflammations bearing rats.

D. DUFOUR et D. B. LINH

Département de Biochimie, Université Laval, Québec (Canada), le 19 mars 1962.

¹⁰ B. OUCHTERLONY, Bull. Soc. Chim. Biol. 33, 756 (1951).

¹¹ F. W. SAYRE, E. HANSEN, T. J. STARR et E. A. YARWOOD, Nature 190, 1116 (1961).

¹² Remerciements. Nous remercions Madame COLETTE G. PARÉ et Monsieur J. PROULX pour leur collaboration.

Cytologische Beobachtungen an Rindererythrocyten mit Hämoglobin-Antikörpern

In diesem Jahrhundert erschienen zahlreiche Arbeiten, die mehr oder weniger verschiedene Methoden zur Herstellung der Erythrocytenmembranen oder der Stromaproteine empfahlen. In der Mehrzahl dieser Arbeiten wurde angeführt, dass die isolierten Membranpräparate wechselnde Mengen von Hämoglobin enthielten. Nur

wenigen Autoren gelang es, die Erythrocytenmembran praktisch hämoglobinfrei herzustellen.

Wir haben während ca. 20 aufeinanderfolgenden Wochen mit verschiedenen Methoden aus jeweils frischen Rindererythrocyten und während einiger Wochen aus Menschen- und Schaferythrocyten Membranen hergestellt¹. Alle

¹ J. TOMCSIK und M. SCHERRER-GÉRY, Path. Microbiol. 24, 915 (1961).