

weibliche Larven die testikuläre Differenzierungsrichtung einschlagen. Da *Xenopus* in Laboratoriumspflege sich leicht zur Geschlechtsreife aufziehen lässt, so haben wir nun seit nahezu zwei Jahren konvertierte Männchen sowohl als konvertierte Weibchen zur Verfügung. Dies ermöglicht die Kombinationen im Züchtungskreis, wie in der beigegebenen Figur dargestellt, und entsprechende genetische Testierung³.

Zunächst ergibt sich dabei die Bestätigung der Geschlechts-Erbformel $ZZ = \text{Männchen}$, $ZW = \text{Weibchen}$. Die Kombination (A) von normalen Weibchen und Männchen ergibt schon auf frühen Larvenstadien eine klare 1:1 Ratio (382 ♂-376 ♀). *Xenopus* ist ausgesprochen gonochoristisch, ohne Neigung zu Zwitterigkeit.

Die zweite Kombination (B) von Normalmännchen mit konvertierten «Brüdern» gibt rein männliche Nachkommenschaften (e.g. 539 ♂), womit schon die ZZ Konstitution der Männchen festgelegt ist.

Wie dann vorauszusehen war, ergibt die Kombination (C) von Normalweibchen (ZW) mit konvertierten «Schwestern» (ZW) eine Geschlechtsproportion von 3 Weibchen: 1 Männchen (e.g. 418 ♀-144 ♂). Dabei ist zu erwarten, dass ein Drittel der Weibchen die neuartige WW Konstitution haben. In Zuchtversuchen, die jetzt noch weitergeführt werden, haben sich schon vier WW Weibchen feststellen lassen; ein vollständiger Bericht soll später folgen.

Schliesslich ergibt die vierte Kombination (D), männlicher Konvert $\times$ weiblicher Konvert wiederum die normale 1:1 Geschlechtsproportion (e.g. 101 ♀-107 ♂), wobei aber die Töchter (ZW) die Erbkonstitution ihres Vaters und die Söhne (ZZ) die Konstitution der Mutter haben.

Interessant und sogar überraschend an diesen Versuchen ist zunächst die Tatsache, dass Orogenese, Ovarialfunktion, weibliche somatische Differenzierung und Ge-

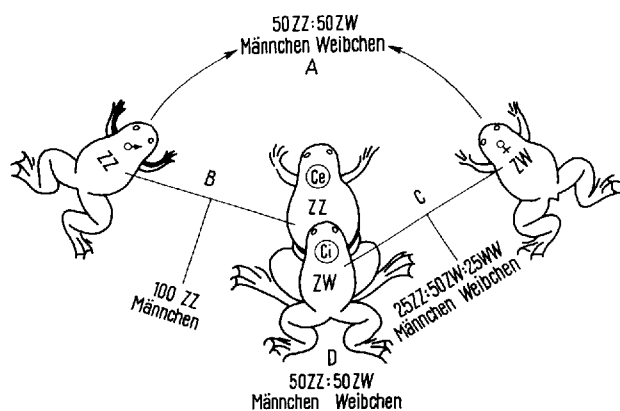
schlechtsinstinkte sich gleicherweise mit allen drei möglichen Erbkonstitutionen: ZZ , ZW , und WW entwickeln und dann lebenslang bestehen. Weder das Z noch das W Chromosom spielt eine spezifische Rolle, und die Fertilität ist in allen drei Typen offenbar dieselbe. Nun können sich aber ZZ - und ZW -Tiere genau so vollkommen auch als Männchen entwickeln; der letzte genetische Typus, WW , ist noch nicht vermännlicht worden, doch sind versprechende Experimente schon im Gange. Man könnte fast den Eindruck gewinnen, dass Z - und W -Gene, bzw. -Chromosomen wenig oder nichts mit der Geschlechtsdifferenzierung zu tun haben. Und doch sind sie in allen direkten Erbversuchen die ausschlaggebenden Determinatoren. Es ist nun aber vollständig klar, dass sie lediglich den initialen Entscheid über kortikale oder medulläre Präponderanz innehalten, aber keinen Einfluss auf die spätere Geschlechtsauswertung haben. Damit ist ja noch nicht gesagt, dass unter geeigneten Bedingungen diese Gene später nicht noch aktiviert werden könnten. Keine Anzeichen dafür wurden bisher in *Xenopus* beobachtet. Dagegen berichtet GALLIEN⁴, dass hormonal verweiblichte Männchen von *Rana temporaria* sich nach der Metamorphose noch in Männchen verwandeln – was ein Wiederdurchsetzen des genetischen Geschlechts bedeutet.

Die berichteten Tatsachen fordern natürlich zu cytologischen Studien heraus. Nach WEILER und OHNO⁵ soll ja das W -Chromosom das längste Element sein. Es stellt sich ohne weiteres die Frage, ob die postgenetische Konversion vielleicht Pyknose oder sonstwelche mikroskopisch erkennbare Anzeichen von Inaktivität einzelner Chromosomenteile bewirkt. Weitere theoretische Betrachtungen sollen jedoch zurückgestellt werden bis gegenwärtig laufende Versuche abgeschlossen sind.

Summary. Sex-converted males and females of *Xenopus* were raised to sexual maturity. Cross-breeding proves that the entire differentiation and reproductive function of females can occur in animals of the genetic constitution ZZ and WW as well as the normal ZW . Moreover, functional males have been obtained with the ZW as well as the ZZ constitution. Experiments with the aim of producing also WW males are in progress. It is concluded that the sex genes and chromosomes which in normal reproduction decide male or female direction of differentiation are restricted in their activity, to the very first steps of normal sex development.

K. MIKAMO und E. WITSCHI⁶

Universität Iowa, Iowa City (U.S.A.), 8. Juli 1963.



Züchtungskreis normaler und geschlechtskonvertierter Krallenfrösche. Jeder Körper hat die genetische Konstitution (ZZ , ZW) eingetragen. Ausserdem ♂ = normales Männchen, ♀ = normales Weibchen, C_e durch östrogenes Hormon in ein Weibchen konvertiertes Männchen, C_i durch Hodenimplantation in ein Männchen verwandeltes genetisches Weibchen. A-D die vier Kombinationen mit resultierenden Geschlechtsproportionen.

Appearance of Anti-Bacterial Agglutinins in X-Irradiated Rabbits Receiving Immune Spleen Nucleoproteins

The appearance of agglutinins in neonatal rabbits receiving spleen extracts from donor rabbits previously immunized with *Salmonella* antigens has been described by

STERZL and HRUBESOVA¹. It was suggested that nucleoproteins were involved in transfer of an antibody-forming mechanism to the immunologically incompetent newborn recipients. Attempts to confirm and extend these findings

¹ J. STERZL and M. HRUBESOVA, *Fol. Biol.* 2, 21 (1956).

³ K. MIKAMO und E. WITSCHI, *Genetics*, im Druck.

⁴ L. GALLIEN, *Bull. Biol. France Belg.* 78, 257 (1944).

⁵ C. WEILER und S. OHNO, *Cytogenetics* 1, 217 (1962).

⁶ Gegenwärtige Adresse: Anatomisches Institut, Universität Basel (Schweiz).

Transferred preparation (from immune donors)	Recipients					
	Pre-treatment	No. of rabbits	Day antibody first appeared after transfer	Day of maximum titer	Maximum titers	Mean peak titers
Whole cell suspension (control)	None	7	3, 5, 3, 3, 3, 3, 3	7, 9, 9, 7, 7, 7, 9	128, 64, 128, 96, 21, 96, 48	83.1
	X-Ray	6	3, 5, 3, 3, 5, 3	7, 9, 5, 7, 9, 7	128, 256, 96, 28, 320, 128	159.3
Cell-free homogenate	None	6	3, 5, 3, 3, 5, 5	5, 9, 9, 7, 9, 9	16, 48, 16, 32, 96, 128	56.0
	X-Ray	6	3, 5, 3, 5, 5, 3	7, 9, 7, 7, 9, 7	16, 48, 32, 64, 8, 64	32.0
Nuclei	None	7	>30, 10, 5, 3, 3, 5, 3	–, 21, 15, 7, 9, 9, 7	0, 16, 32, 48, 16, 128, 64	42.4
	X-Ray	5	5, >30, >30, 3, 5	12, 0, 0, 7, 9	32, 0, 0, 128, 64	44.8
Mitochondria	None	6	3, 5, >30, 5, 7, 7	9, 9, –, 9, 15, 12	16, 32, 0, 48, 16, 96	34.7
	X-Ray	6	3, 5, 3, >30, 15, >30	7, 9, 7, –, 20, –	24, 64, 48, 0, 0, 128	44.0
Deoxyribonucleoproteins	None	8	5, 7, 3, 3, >30, 15, >30, 9	9, 12, 9, 7, –, 20, –, 9	48, 32, 16, 48, 0, 96, 0, 48	36.0
	X-Ray	6	3, 7, 3, >30, 9, 5	9, 15, 17, –, 15, 15	21, 32, 16, 0, 32, 18	25.3
Ribonucleoproteins	None	7	3, 5, 5, 9, 5, 15, >30	7, 9, 9, 15, 12, 20, –	96, 32, 16, 48, 96, 24, 0	44.6
	X-Ray	10	9, >30, >30, 3, 7 7, 3, 3, 5, >30	15, –, –, 9, 12 12, 7, 9, 9, –	64, 0, 0, 32, 48, 48, 96, 128, 64, 0	48.0

have been only partially successful²⁻⁶. This report is concerned with detection of agglutinins to *Shigella paradysenteriae* antigens in sera of normal and X-irradiated recipient rabbits following transfer of nucleoprotein-rich fractions prepared from regional lymph node cells obtained from donor adult rabbits previously immunized with *Shigella* antigens.

In these experiments, donor rabbits were injected into each foot pad with 2.5×10^7 alcohol-killed *Shigella* organisms suspended in 0.25 ml saline. At varying intervals thereafter, popliteal and axillary lymph nodes were excised and cell suspensions prepared. Transfer of an aliquot of such suspensions, containing 2.5×10^6 or more viable lymphocytes per ml, would result in appearance of anti-*Shigella* agglutinins in 8 to 12 week old recipient rabbits, either normal or X-irradiated 24 h previously with 425r. Agglutinins could usually be detected three days following transfer and usually reached maximal titers at seven days.

Such agglutinin-forming lymph node cell suspensions were fractionated by differential centrifugation and by salt extraction methods to yield cell-free preparations consisting of either nuclei, mitochondria, deoxyribonucleoproteins (DNP), and ribonucleoproteins (RNP)^{7,8}. None of these fractions gave evidence of containing serologically detectable *Shigella* antigens or anti-*Shigella* antibodies. 1 ml of each preparation, containing extract equivalent to 100 to 150 mg wet weight lymph node cells, were injected intravenously into 8 to 12 week old rabbits, either normal or X-irradiated. Evidence for transfer of an antibody producing capacity was sought by determining the titer of anti-*Shigella* agglutinins in the recipients sera following transfer, using the tube dilution agglutination test.

The Table gives the results of a typical series of experiments in which agglutinin titers were observed in sera of various recipient rabbits following transfer of nucleoprotein fractions, subcellular fragments, and control whole lymph node cell suspensions. Detectable levels were found in nearly all recipients, either X-irradiated or normal. In most cases, titers were lower in recipients receiving cell-free preparations as compared to recipients of whole cell suspensions. The appearance of agglutinins was often delayed in those rabbits receiving the cell-free material. However, recipient rabbits receiving similar preparations from either non-immunized donor rabbits or from lymph node cells heated at 56°C for 60 min prior to fractionation,

were uniformly negative. No agglutinins were detectable in such control recipients during a period of at least 30 days following transfer.

A time interval of 48 to 96 h between foot pad injection of donor rabbits and preparation of the lymph node cell suspensions and fractions was found to be optimal for appearance of anti-*Shigella* agglutinins in sera of recipients. A longer or shorter interval resulted in less consistent or negative results.

Whether or not appearance of agglutinins in sera of non-immunized recipient rabbits receiving subcellular lymph node fractions from immunized donor rabbits can be attributed to transfer of an antibody forming mechanism has not been revealed by these findings. Further experiments are under way to determine whether undetected but immunogenic amounts of *Shigella* antigen, possibly associated with nucleoproteins, may result in active stimulation of antibody formation in X-irradiated animals, which may have recovered some immunologic capability following transfer of lymph node cell extracts.

Résumé. Le transfert de noyaux, de mitochondries, de désoxyribonucléoprotéines et de fractions ribonucléoprotéiques, dérivant de cellules de ganglion lymphatique préparées à partir de lapins donneurs, immunisés contre *Shigella* a provoqué l'apparition d'agglutinines anti-*Shigella* dans le sérum de lapins, soumis aux rayons X durant 24 h.

H. FRIEDMAN

Departments of Microbiology, Albert Einstein Medical Center and Temple University School of Medicine, Philadelphia (Pennsylvania, U.S.A.), February 12, 1963.

² M. HRUBESOVA, B. A. ASKONAS, and J. M. HUMPHREY, *Nature* **183**, 97 (1959).

³ A. B. STAVITSKY, *Brit. J. Exp.* **39**, 46 (1958).

⁴ J. D. EBERT and W. J. VAN DOORENMAALEN, *Ann. Report, Carnegie Inst. Washington, Dept. Embryology* (1958-59), p. 399.

⁵ B. D. JANKOVIC, K. ISAKOVIC, and J. HORVATH, *Nature* **183**, 1400 (1959).

⁶ M. NESTOR, O. MAKELA, and G. J. V. NOSSAL, *Trans. Bull.* **28**, 98 (1961).

⁷ W. C. SCHNEIDER and G. H. HOGEBLOOM, *J. biol. Chem.* **183**, 123 (1950).

⁸ A. E. MIRSKY and A. W. POLLISTER, *J. gen. Physiol.* **30**, 117 (1947).