

and 4.9 and 14.0 respectively when it was performed in the conventional manner. (The conditions of acetylation were chosen arbitrarily.)

Deoxycholic acid (170  $\mu\text{g}$ ), deposited on paper, was suspended over a mixture of N-methyl-N-nitroso-*p*-tolyl-sulphonamide (a few crystals), ethanol (a few drops) and aqueous 5N-KOH (a few drops). After 16 h at room temperature, the crude product was eluted with chloroform-methanol (1:1, v/v). It gave an IR-spectrum identical with authentic methyl deoxycholate. Paper chromatography gave only one detectable spot with the mobility of the methyl ester. Identical treatment of 11 $\beta$ -hydroxy-3-oxo- $\Delta^4$ -choleic acid (4  $\mu\text{g}$ ) gave the expected methyl ester as sole product (paper-chromatographic evidence). The time allowed for reaction (overnight) was convenient but almost certainly unnecessarily long since benzoic acid, deposited on blue litmus paper and exposed to diazomethane as in the preceding examples, was esterified (disappearance of the red spot) within a few minutes.

It was found convenient – particularly when large numbers of esterifications were to be carried out – to roll the paper supports and insert them into holes (5 mm diameter) made in a piece of Teflon sheet which was then suspended from a hook attached to a glass stopper. Care was taken that the papers did not touch the walls of the test tube.

*Compounds deposited on stainless steel gauze.* Compounds were deposited on cylindrically shaped steel gauzes as previously described<sup>1</sup>. The loaded gauzes were placed in indentations (3 mm diameter, 2 mm deep) of a Teflon disc (18 mm diameter) which was then suspended over a mixture of acetic anhydride and pyridine. After 16 h at room temperature, the gauzes were introduced onto a gas-chromatographic column either manually<sup>1</sup> or automatically<sup>2</sup>. Dehydroepiandrosterone, aetiocholanolone,

testosterone, oestrone, pregnanediol – among others – each gave rise to a single gas-chromatographic peak with the retention time of the expected acetate.

The examples cited suffice to illustrate the advantages of the present technique, namely: (1) Large numbers of samples can be reacted in one reaction vessel. (2) Minimum of handling (no 'work-up'). (3) Any need to use freshly distilled reagents is circumvented. (4) Economic use of reagents (important in the case of isotopically labelled reagents). (5) In combination with a solid-injection system the preparation of derivatives for gas chromatography is greatly simplified.

Clearly, the scope of the present technique may be extended to include other volatile reagents and other supporting materials. Of particular interest are supporting materials (e.g. ion-exchange paper) which may act as acid or base catalysts<sup>3</sup>.

*Zusammenfassung.* Es wird eine einfache mikroanalytische Technik zur Ausführung von Reaktionen mit flüchtigen Reagenzien beschrieben.

J. K. NORZYMBERSKI and ANNE RIONDEL

*Laboratoire d'Endocrinologie, Laboratoire de Physiopathologie, Université de Genève (Switzerland), 25th October 1966.*

<sup>1</sup> E. MENINI and J. K. NORZYMBERSKI, *Biochem. J.* 95, 1 (1965).

<sup>2</sup> R. BORTH, A. CANOSSA and J. K. NORZYMBERSKI, *J. Chromat.*, in press.

<sup>3</sup> We are indebted to F. Hoffmann-La Roche and Co. AG, Basel, for their support of this work and to Miss MAUREEN MANSON for technical assistance.

## Sexchromatinbestimmung aus der Haarwurzel

Das Geschlechtschromatin wird heute für klinische Zwecke fast ausschliesslich an Mundschleimhautabstrichen bestimmt. Im folgenden wird eine Methode beschrieben, die als Alternative oder Ergänzung zu dieser herkömmlichen Methode dienen kann. Sie ist für die Person, die das Material beschaffen muss, von unübertroffener Einfachheit und liefert Resultate, die der Mundschleimhautabstrichmethode mindestens ebenbürtig sind.

Alles was benötigt wird, ist ein Haar mit Wurzel. Hat man sich versichert, dass das epilierte Haar eine vollständige, lange Wurzelscheide aufweist, so gibt man es entweder direkt an die verarbeitende Stelle weiter oder man wickelt es in ein Stück feuchtes Papier und liefert es innert weniger Stunden zur Präparation ab.

Die weitere Verarbeitung erfordert eine gewisse Übung und Geschicklichkeit. Zuerst wird das Haar auf etwa drei cm verkürzt, dann legt man es auf einen Objektträger und bedeckt die Wurzel mit einem grossen Tropfen von frisch filtriertem, gesättigtem essigsäurem Orcein. Über einer Spiritusflamme wird der Tropfen sorgfältig auf etwa 60°C erwärmt. Darauf wird das Haar auf einen neuen Objektträger verbracht und die Wurzel mit einem Tropfen 50%iger Essigsäure bedeckt.

Unter der Präparierlupe erkennt man nun die stark rot gefärbte äussere Wurzelscheide, die das Haar distal vom Bulbus schlauchförmig umgibt. Mit einer Lanzette wird diese äussere Wurzelscheide möglichst als Ganzes abgestreift. Bei dieser Manipulation bricht gewöhnlich der Haarbulbus ab. Er wird zusammen mit dem Haarschaft entfernt, und lediglich die Wurzelscheide wird auf dem Objektträger belassen. Mit einem Filterpapier wird die Essigsäure entfernt und das Material mit einem neuen Tropfen Orcein bedeckt. Sodann wird ein Deckglas aufgelegt und das Präparat nochmals etwa zwei Minuten lang leicht erwärmt. Zwischen zwei Filterpapieren wird das überflüssige Orcein durch sanftes Quetschen mit dem Daumen entfernt und das Material abgeflacht und ausgebreitet. Das Deckglas darf dabei nicht verschoben werden. Mittels Krönig's Deckglaskitt wird das Präparat am Schluss abgedichtet.

Typischerweise findet man nun die mehreren 10000 Zellkerne einer Wurzelscheide in einer einzelligen Schicht ausgebreitet (Figur). Das Chromatin dieser Kerne ist sehr fein verteilt und frei von störenden Chromozentren. Die einzige Chromatinverdichtung wird vom Sexchromatin gebildet. Typische randständige Sexchromatinkörperchen finden sich bei der Frau in rund 30% der Kerne. Wegen der Abwesenheit anderer Chromozentren ist es beim vorliegenden Material durchaus angängig.



Sexchromatin in den Zellkernen der äusseren Wurzelscheide eines epilierten weiblichen Kopfhaares. Orcein-Färbung. Der Kontrast ist durch die Photographie verstärkt.

auch Sexchromatine zu zählen, die nicht randständig liegen. Ungefähr 40% der Kerne zeigen solche, im Kerninnern gelegene Sexchromatinkörperchen. Zusammengekommen finden sich somit in weiblichen Haarwurzelscheiden rund 70% chromatinpositiver Kerne. Sowohl randständige wie zentral gelegene Sexchromatine fehlen beim männlichen Geschlecht praktisch vollständig. Auf keinen Fall findet man bei chromatinnegativen Personen mehr als 2% Kerne mit einer Struktur, die mit einem Sexchromatin verwechselt werden könnte.

Orcein-Quetschpräparate sind beschränkt haltbar, d.h. im Kühlschrank lassen sie sich während einiger Wochen aufbewahren. Will man die Präparate dauerhaft machen, so werden die Deckgläser mittels der Trockeneismethode (CONGER und FAIRCHILD)<sup>1</sup> entfernt, und anschliessend können die Präparate Feulgen-gefärbt werden oder wie Mundschleimhautabstriche nach der Methode von KLINGER und LUDWIG<sup>2</sup> mit Thionin gefärbt werden.

Abschliessend lässt sich sagen, dass die beschriebene Methode folgende Vorteile aufweist: Im Vordergrund steht die Einfachheit der Materialgewinnung. Zweitens ersetzt diese Technik die umständliche Sexchromatinbestimmung aus Hautbiopsien. Die äussere Haarwurzelscheide ist eine Fortsetzung der Epidermis, also der gleichen Schicht, in welcher man an der histologisch verarbeiteten Hautbiopsie das Kerngeschlecht untersucht. Ferner dürfte sich die Methode bei verschiedenen Säugetierarten eignen, bei denen ein Mundschleimhaut-

abstrich ein gefährliches oder unmögliches Unterfangen darstellt.

Anstoss zur Ausarbeitung dieser unseres Wissens noch nie angewandten Methode gab dem Autor die Anfrage eines Polizeiarztes, Dr. E. CASTAGNOLI von der Kriminalpolizei der Stadt Zürich, ob man das Geschlecht eines Haares mittels zytologischer Methoden nachweisen könne. Was diese medicolegale Fragestellung betrifft, wäre hinzuzufügen, dass die Geschlechtsbestimmung mit der Sexchromatintechnik natürlich nur dann gelingt, wenn das Haar mindestens Reste einer Wurzel aufweist. Die Bestimmung wird nach unserer Erfahrung schwieriger, aber nicht unmöglich, wenn die Haarwurzel während längerer Zeit völlig eingetrocknet war.

*Summary.* A method is described by which sex chromatin can be easily and routinely determined in the cell nuclei of the root sheath of a single pulled human hair.

W. SCHMID

*Genetisches Laboratorium der Universitäts-Kinderklinik Zürich (Schweiz), 23. Dezember 1966.*

<sup>1</sup> A. D. CONGER and L. M. FAIRCHILD, *Stain Technol.* 28, 281 (1953).

<sup>2</sup> H. P. KLINGER and K. S. LUDWIG, *Stain Technol.* 32, 235 (1957).

## CONGRESSUS

### Italy

#### International Symposium on Growth Hormone

*Milan (Italy), 11th–13th September 1967*

The Symposium will be divided into the following 6 sessions: (1) Physicochemical Properties; (2) Immunochemical and Immunoassay Studies; (3) In vivo Effects; (4) In vitro Effects; (5) Regulation of Secretion; (6) Clinical Investigations. Each session of the Symposium will consist of 6–8 invited papers. A few sessions for a limited

number of communications will also be included in the final programme.

Deadlines. Advanced registration and hotel reservation: 31st May 1967. Abstracts: invited papers (400 words) and communications (200 words), 15th May 1967.

Registration forms and forms for submission of abstracts of short communications may be obtained from the Symposium Secretariat, Istituto di Farmacologia e Terapia dell'Università, 21 Via A. del Sarto, Milano (Italy).