

des protéines a eu lieu à la tension de 180 volts pendant 4 h et leur distribution a été ensuite mise en évidence par la coloration à l'amidoschwarz selon DAVIS¹⁴.

Les diagrammes électrophorétiques des deux souches sur milieu Ps et de la souche mutante sur milieu induc-
teur, acétate-succinate, ont été comparés dans la Figure 2. L'amidoschwarz nous a permis de colorer et de distinguer, comme protéines solubles de la souche sauvage, 28 bandes (si l'on compte la bande R₁, dédoublement diffus de R) toutes avec des degrés plus ou moins intenses mais suffisants de coloration. Avec le même critère d'appréciation, nous n'en avons compté que 23 pour la souche mutée. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues en 1962 par CHANG et al.¹⁶ dans les premières séparations sur gel d'acrylamide de protéines solubles de *Neurospora*. Les aliquotes employées pour chaque analyse ont été ajustées au même titre d'azote protéique (méthode de LOWRY et al.¹⁷); ainsi, les différences d'intensité de coloration des bandes, considérées comme le reflet de différences quantitatives entre souches, peuvent être estimées par densitométrie (recherches en cours). Quant aux différences qualitatives nettes, manifestées par les bandes en plus ou moins illustrées à la Figure 2, nous les avons mises à profit pour déterminer le degré de similarité entre souche sauvage et mutante à l'aide de la formule proposée par WHITNEY et al.¹⁸ dans un but de taxonomie fongique. L'application de cette formule nous a permis de calculer que le 47% de bandes homologues entre souches sauvages et mutantes sur milieu Ps normal est passé à 85% quand le mutant a été induit à conidiation. Cette

augmentation rend compte de l'apparition de bandes communes correspondant très vraisemblablement à la récupération du pouvoir conidiogène par le mutant¹⁹.

Summary. The antigens and soluble proteins of *Neurospora crassa* wild-type and its conidiation deficient mutant 'amyc' were analyzed by immunoelectrophoresis and acrylamide gel electrophoresis respectively. Comparison of the patterns of the soluble proteins of the 2 strains, obtained with both techniques, showed an alteration of antigens and proteins in the mutant. A specific antigenic protein present in the wild-type, presumably in connection with conidiation, was also found in the mutant 'amyc' when it was induced to form conidia.

R. PEDUZZI et G. TURIAN

*Laboratoire de Microbiologie,
Institut de Botanique Générale de l'Université,
1211 Genève 4 (Suisse), 24 juin 1969.*

¹⁶ L. O. CHANG, A. M. SRB, F. C. STEWARD, *Nature* 193, 756 (1962).

¹⁷ O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR et R. J. RANDALL, *J. biol. Chem.* 193, 265 (1951).

¹⁸ P. J. WHITNEY, J. G. VAUGHAN et J. B. HEALE, *Expl Bot.* 19, 415 (1968).

¹⁹ La préparation des anticorps a été réalisée à l'Institut d'Hygiène de Genève dans le laboratoire d'Immunochimie du Dr. C. AHMAD-ZADEH et nous le remercions de ses précieux conseils.

Isolation of Blood Group A Substance from *Tubifex rivulorum*

It is a hitherto unexplained phenomenon that many invertebrates, mainly helminthes, contain glycoproteins which give remarkable cross-reactions with anti-blood group reagents, especially anti-A or anti-P. This subject has been reviewed by SOULSBY¹, CUSHING² and PROKOP and UHLENBRUCK³. On the other side, they contain either in certain organs, like in the albumin gland of snails⁴ or in their hemolymph^{5,6} agglutinins, which do not resemble the immunoglobulins of other species⁵, but which exhibit a strong antibody-like specificity towards terminal sugar components, thus giving rise to many cross-reactions with red cells of different vertebrates, blood group substances and bacteria.

Recently, for instance, we could demonstrate⁷ that the specificity of a certain agglutinin from the snail *Cepaea nemoralis* and of the agglutinin from the hemolymph of *Limulus polyphemus* is directed towards terminal N-acetyl-neuraminic acid, which inhibits the agglutination of red cells by these agglutinins. This agglutination is also abolished by neuraminidase. An interesting observation seems to be that exactly those invertebrate animals do not have any neuraminic acid in their body fluids and organs⁸.

It has been speculated that the agglutinins of the hemolymph⁹ as well as those from snails and fish eggs⁴ represent primitive defence or recognition factors. The latter have therefore been designated by us as protec-
tins¹⁰. This view has been supported by BURNET¹¹ and throws new light on the evolution of the immune process,

especially in invertebrates, and on immunological conditions of their ecology.

In the course of further experiments in this field we found that from *Tubifex rivulorum* large amounts of blood group A substance can be obtained by extracting a saline homogenate (Waring blender) of these worms with 90% (v/v) phenol at room temperature. The dialysed and lyophilized water-layer yields larger amounts of a glycoprotein, which precipitates strongly with the anti-A from *Helix pomatia* and *Cepaea nemoralis* in agar gel diffusion, giving a line of identity with A substance prepared from peptone. In addition, the haemagglutina-

¹ E. J. L. SOULSBY, *Adv. Immunol.* 2, 265 (1962).

² J. E. CUSHING, *Fedn Proc.* 26, 1666 (1967).

³ O. PROKOP and G. UHLENBRUCK, in *Human Blood and Serum-Groups* (McLaren, London 1969).

⁴ O. PROKOP, G. UHLENBRUCK and W. KÖHLER, *Vox Sang.* 4, 321 (1968).

⁵ J. J. MARCHALONIS and G. M. EDELMAN, *J. molec. Biol.* 32, 453 (1968).

⁶ E. COHEN, *Trans. N.Y. Acad. Sci.*, II, 30, 427 (1968).

⁷ G. UHLENBRUCK and W. GIELEN, *Fortschr. Neurol.*, in press.

⁸ L. WARREN, *Comp. Biochem. Physiol.* 70, 153 (1963).

⁹ J. E. McDADE and M. R. TRIPP, *J. Invertebrate Pathol.* 9, 523 (1967).

¹⁰ O. PROKOP, G. UHLENBRUCK and W. KÖHLER, *Dts. Gesundh. 23*, 318 (1968).

¹¹ F. M. BURNET, *Nature* 218, 426 (1968).

tion by anti-A reagents of different origin, including those from snails and plants, of human A cells is strongly inhibited. Under normal conditions, the substance does not coat on red cells.

After acid hydrolysis the following sugars were detected by chromatography: D-galactose, glucosamine, galactosamine, fucose and an unidentified sugar. In addition, large amounts of glucose were found, obviously resulting from a glucose-polysaccharide contaminating the preparation. This fact explains also the reaction of Concanavalin A with the extracted material in agar gel diffusion¹².

Zusammenfassung. Es wird über das Vorkommen von Agglutininen und Blutgruppensubstanzen bei Avertebraten berichtet. Besonders interessant sind dabei

Agglutinine gegen Neuraminsäure sowie die Verbreitung von Blutgruppensubstanz A.

G. UHLENBRUCK, U. REIFENBERG
and O. PROKOP

*Medical University Clinic, Lindenburg,
D-5 Köln-Lindenthal (West Germany),
and Institute of Forensic Medicine,
Humboldt-University,
Berlin (DDR), 2 April 1969.*

¹² The work was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft.
We thank Mrs. M. HEGGEN for her excellent technical assistance.
We are also indebted to Prof. H. ENGLÄNDER for his kind advice.

Surrénalite autoimmune expérimentale chez la souris*

La possibilité d'obtenir des lésions de surrénalite expérimentale chez l'animal a été démontrée chez le lapin^{1,2}, le cobaye³⁻⁶ et le rat⁷⁻⁹. La souris n'ayant pas été utilisée, il nous a semblé intéressant d'étudier les possibilités de production d'une surrénalite autoimmune chez cet animal de manipulation facile et dont les nombreuses souches pures existant à l'heure actuelle nous permettront ultérieurement d'étudier les facteurs génétiques pouvant intervenir dans le déterminisme de cette affection expérimentale.

Matériel et méthode. 14 souris CF 1, âgées de 3 à 4 mois ont été immunisées à l'aide d'un mélange constitué par un volume d'adjuvant de Freund et d'un volume d'une suspension de tissu surrénalien obtenu en homogénéisant 10 surrénales isologues dans 2,5 ml de Tampon physiologique pH: 7,2. Chaque souris a reçu par voie s.c. en une seule fois, en plusieurs points, 0,3 ml du mélange: 0,1 ml dans la patte droite, 0,1 ml dans le flanc droit et 0,1 ml dans le flanc gauche. Une prise de sang a été faite dans le sinus caverneux pour étudier l'apparition des anticorps antisurrénaliens:

2 souris ont été sacrifiées au 8ème jour, 7 au 15ème jour, 3 au 21ème jour et 2 à 4 mois.

Aussitôt après le sacrifice de l'animal, les deux surrénales ont été prélevées: l'une a été congelée à -70 °C et conservée pour étude ultérieure: l'autre a été fixée dans une solution de Bouin pour étude histologique après coloration à l'hématoxilin-éosine.

L'importance des lésions histologiques a été appréciée de la façon suivante: 0: pas de lésion inflammatoire (Figure 1); ±: quelques cellules lymphocytaires; +: un foyer inflammatoire comprenant une infiltration de lymphocytes; ++: deux foyers inflammatoires; +++: grosses lésions inflammatoires avec remaniement cellulaire, présence de lymphocytes, quelques hémorragies (Figures 2 et 3).

12 souris nous ont servi de témoins, elles ont reçu en s.c. 0,3 ml d'adjuvant complet dilué au demi avec du sérum physiologique.

Les surrénales de ces animaux ont été prélevées au bout de 15 jours et une étude histologique a été pratiquée comme pour le groupe des 14 souris en expérience.

Les anticorps anti-surrénaliens ont été recherchés suivant notre technique habituelle d'immunofluorescence à deux couches sur surrénales de singe non fixée¹⁰. Le sérum a été au préalable absorbé avec un broyat de foie

de singe (1 volume de sérum pour 1 volume de broyat) de façon à éliminer les éventuelles réactions non spécifiques.

Etude histologique. Les résultats sont indiqués dans les tableaux I et II.

Etude sérologique. 9 animaux sur 14 ont présenté des anticorps antisurrénaliens; 2 sérum étaient positifs à la dilution du 1/4; 7 étaient positifs à 1/2. 4 sérum étaient

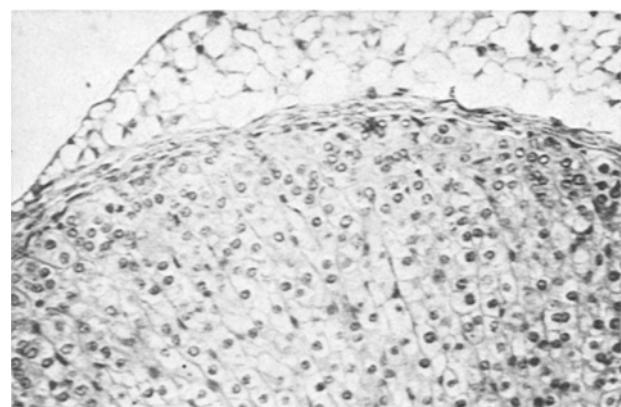


Fig. 1. Aspect normal d'une surrénales de souris CF1. Coloration à l'hématoxilin-éosine.

* Travail du Laboratoire d'Hygiène, Faculté de Médecine de Lyon, service du Professeur THIVOLET.

¹ M. MILCOU, A. LUPULESCOU et M. TAGA, Annls. Endocr. 20, 799 (1959).

² E. WITEBSKY et F. MILGROM, Immunology 5, 67 (1962).

³ E. V. BARNETT, D. C. DUMONDE et L. E. GLYNN, Immunology 6, 382 (1963).

⁴ J. COLOVER et L. E. GLYNN, Immunology 2, 172 (1958).

⁵ J. W. STEINER, B. LANGER, D. L. SCHATZ et R. VOLPE, J. exp. Med. 112, 187 (1960).

⁶ K. TERPLAN, E. WITEBSKY et F. MILGROM, Arch. Path. 76, 33 (1963).

⁷ J. A. ANDRADA, F. R. SKELTON, E. C. ANDRADA, F. MILGROM et E. WITEBSKY, Lab. Invest. 19, 460 (1968).

⁸ T. IRINO et A. GROLLMAN, Metabolism 17, 717 (1968).

⁹ S. LEVINE et J. WENK, Am. J. Path. 52, 41 (1968).

¹⁰ G. POUSET, J. TOURNIAIRE, J. C. MONIER et C. BONHOMME, Revue fr. Endocr. clin. 9, 305 (1968).