

WEISS<sup>12</sup>. Cell deformation is associated with morphogenetic movements of gastrulation<sup>13</sup>. Charge reduction may affect the ease with which cells can elongate and form low radius of curvature probes during involution through the blastopore.

From these experiments we conclude that: embryonic cells at the blastula stage have high electrophoretic

Table II. Electrophoretic mobilities of presumptive germ layers at the blastula stage

Layer	Density	Mobility $\pm$ S.E.
A	1.07-1.08	1.38 $\pm$ 0.015
B	1.08-1.09	1.38 $\pm$ 0.017
C	1.09-1.10	1.31 $\pm$ 0.016*
D	1.10-1.11	1.27 $\pm$ 0.013*
E	1.11-1.12	1.38 $\pm$ 0.012
F	1.12-1.13	1.38 $\pm$ 0.013

\* Significant at the 0.01 level from ectodermal (A, B) and endodermal cells (E, F).

mobilities, and mesodermal cells have significantly lower values than endodermal and ectodermal cells.

**Résumé.** La mobilité électrophorétique des couches germinales présumptives d'embryons de *Xenopus laevis* au stade blastula fut mesurée. Les valeurs obtenues ont été 1,38  $\mu$ /sec/V/cm pour les cellules ectodermiques et endodermiques et entre 1,27 et 1,31 pour les cellules mésodermiques, les différences de mobilité furent significatives.

HARRIET L. MACMURDO and  
SARA E. ZALIK<sup>14</sup>

Department of Zoology, University of Alberta,  
Edmonton (Alberta, Canada), 27 October 1969.

<sup>12</sup> L. WEISS, J. Cell Biol. 26, 735 (1965).

<sup>13</sup> J. HOLTFRETER, J. exp. Zool. 94, 261 (1943); 95, 171 (1944).  
— P. C. BAKER, J. Cell Biol. 24, 95 (1965).

<sup>14</sup> This work was supported by a grant from the National Research Council of Canada to SARA E. ZALIK.

## Localisation d'une Glycoprotéine tissulaire du rat dans les cellules de la lignée myéloblastique<sup>1</sup>

Nous avions isolé et caractérisé une glycoprotéine, extraite d'une tumeur primaire au 2-AAF<sup>2,3</sup>. Nous avions observé, par double diffusion et immunofluorescence, que cette protéine existe naturellement dans le foie embryonnaire et, chez l'adulte, dans la rate, la moelle osseuse et le poumon<sup>3</sup>. La méthode de l'immunofluorescence avait montré que cette protéine se situe électivement dans les cellules de la lignée myéloblastique. Cependant, il est bien connu qu'au niveau des granulocytes et des histiocytes, il y a danger de captage non-spécifique de la fluorescéine<sup>4</sup>. Aussi, pour préciser davantage la localisation cellulaire de cette protéine, nous avons remplacé l'immunofluorescence par la nouvelle méthode de marquage d'anticorps avec les enzymes<sup>5,6</sup>. De plus, pour mieux détailler la morphologie cellulaire, nous avons utilisé la méthode des suspensions cellulaires de Brozzi<sup>7</sup> qui permet de dégager d'un tissu, les cellules les unes des autres, tout en conservant intégrée leur morphologie et même leur viabilité.

**Matériel et méthodes.** Le sang et la moelle osseuse du rat adulte, de race Sprague-Dawley de 225 g et le foie de l'embryon de 20 jours ont été prélevés sous anesthésie au nembutal. Les suspensions cellulaires sont alors faites selon la méthode de Brozzi<sup>7</sup>.

Nous avons utilisé la méthode indirecte, à l'aide d'un anticorps de lapin monospécifique dirigé contre la glycoprotéine purifiée selon une méthode décrite ailleurs<sup>3</sup> et d'une anticorps de chèvre anti-gamma-globuline de lapin purifié par la méthode des immunoabsorbants<sup>8</sup>. Le marquage à la glucose oxydase des gamma-globulines de chèvre anti-gamma-globuline de lapin se fait selon la méthode d'AVRAMEAS<sup>9</sup> à l'aide, comme coupleur, de la glutaraldéhyde à 1%.

La vérification du marquage est faite par double diffusion, analyse immunoélectrophorétique et sur frottis de la rate du lapin hyperimmun<sup>9</sup>. La réaction immuno-histochimique indirecte est faite sur les frottis de sang et sur les suspensions cellulaires de la moelle osseuse et du foie embryonnaire fixés 45 min dans un mélange alcool-ether (60-40). On applique successivement sur ces frottis

l'immunsérum de lapin anti-glycoprotéine dilué 1/50 et l'anticorps marqué à la glucose-oxydase (0,3 mg de protéine par ml) pour une période d'une heure. L'activité enzymatique de la glucose-oxydase est révélée selon la méthode décrite par AVRAMEAS<sup>9</sup>.

**Résultats.** Cette méthodologie expérimentale permet de localiser spécifiquement la glycoprotéine dans le cytoplasme du myélocyte, du métamyélocyte, et du poly-nucléaire de la moelle osseuse (Figure 1), le métamyélocyte du foie embryonnaire (Figure 2) et le poly-nucléaire neutrophile du sang circulant (Figure 3-B).

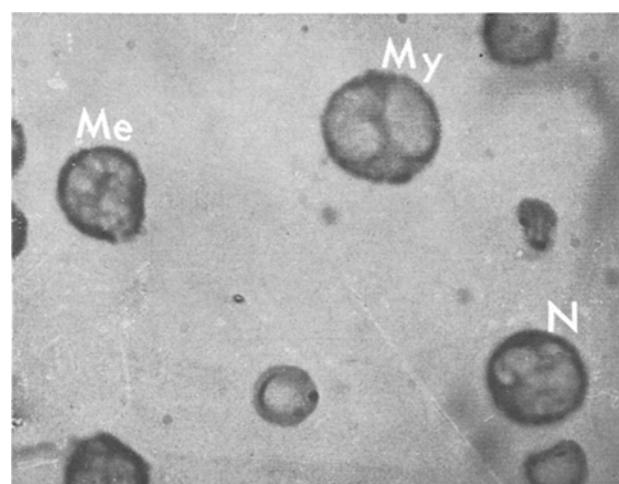


Fig. 1. Détection de la  $\beta$ -glycoprotéine dans les cellules de moelle osseuse du rat adulte. Présence de la glycoprotéine dans le cytoplasme du métamyélocyte (Me) du myélocyte (My) et du poly-nucléaire (N).

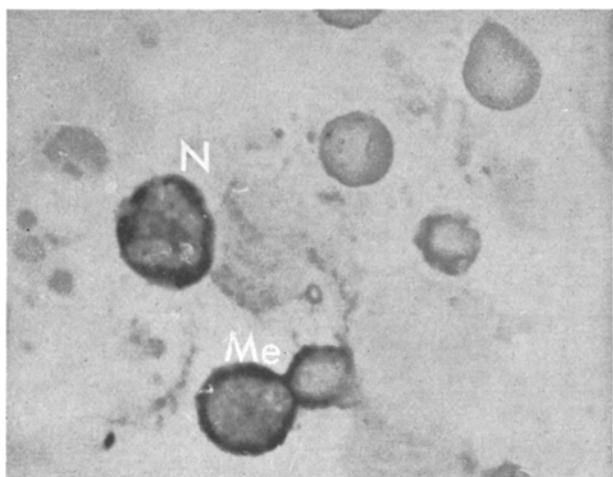
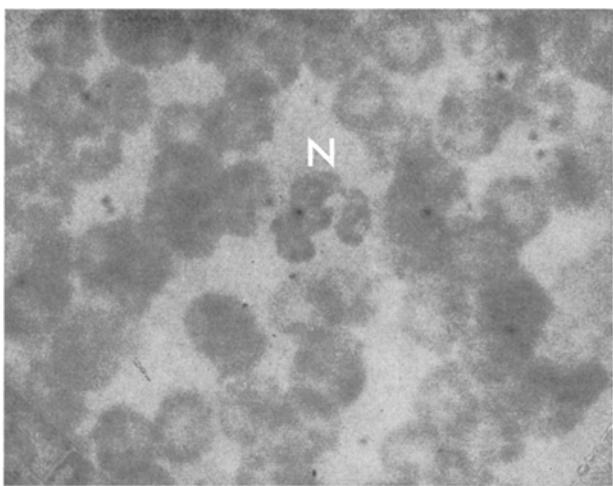
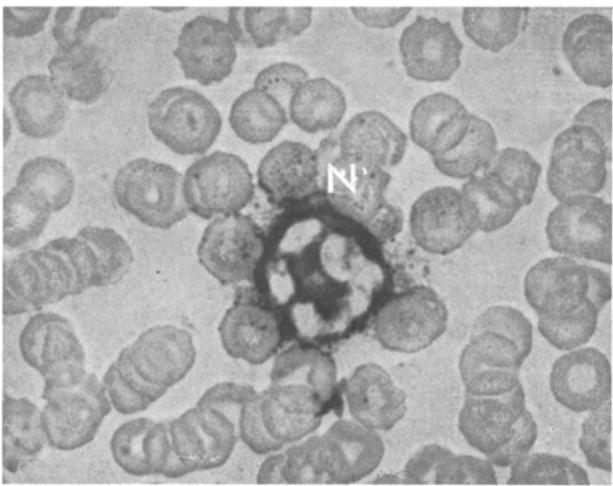


Fig. 2. Localisation de la  $\beta$ -glycoprotéine dans le foie embryonnaire. Réaction expérimentale: à noter la localisation dans le métamyélocyte (M) et le polynucléaire (N).



a



b

Fig. 3. Démonstration de la réaction spécifique du polynucléaire neutrophile (N). a) Réaction contrôle (anticorps absorbé).  $\times 1000$ . b) Réaction expérimentale.  $\times 1000$ .

*Discussion.* Les réactions contrôles, faites à l'aide de l'immunsérum absorbé par la glycoprotéine pure, démontrent la spécificité de ces réactions et prouvent que la glycoprotéine pure, absorbant la réactivité spécifique avec tous les tissus où se trouve cette protéine, démontrent ainsi que cet antigène, dans tous ces tissus et cellules, est immunochimiquement identique. Au cours de la granulopoïèse, la  $\beta$ -glycoprotéine apparaît dans les cellules précurseurs du neutrophile (PMN), dans la moelle osseuse et le foie embryonnaire, soit les métamyélocytes et les myélocytes<sup>10, 11</sup> jusqu'au neutrophile, chez l'adulte.

La méthode de marquage aux enzymes confirme et précise davantage les résultats obtenus par l'immuno-fluorescence. Nos résultats précisent en outre d'autres travaux sur les constituants antigéniques du poly-nucléaire du rat qui ont montré l'existence de relations antigéniques d'identité totale avec des constituants de la moelle osseuse<sup>12</sup> de la rate<sup>13</sup> et du foie<sup>14</sup>, en mettant en évidence leur appartenance à cette lignée cellulaire myéloblastique.

L'activité métabolique des neutrophiles s'exerce surtout dans le tissu<sup>11</sup>; ceci peut expliquer l'apparition de cette protéine, reliée à ces cellules, dans le tissu et l'exsudat inflammatoire.

On pourrait penser que cette protéine, ainsi reliée à cette lignée cellulaire, dont la concentration est très réduite chez le rat exempt de germes<sup>15</sup>, pourrait posséder des propriétés biologiques comparables à celles des leukines<sup>16</sup> et de la phagocytine<sup>17</sup> et être un de ces facteurs bactéricides naturels.

*Summary.* It is shown by the method of enzyme antibody tagging technique that a rat tissue glycoprotein is located in the cytoplasm of cells of myeloblastic origin.

A. TREMBLAY et D. DUFOUR<sup>18</sup>

Université Laval, Centre de Biomédecine,  
Québec 10e (Canada), 27 novembre 1969.

<sup>1</sup> Travail subventionné par le Conseil des Recherches Médicales du Canada.

<sup>2</sup> D. DUFOUR, A. TREMBLAY, P.-J. POIRIER et A. BRASSARD, Rev. Immunol. 31, 37 (1967).

<sup>3</sup> D. DUFOUR, A. BRASSARD, A. TREMBLAY et S. LEMIEUX, Path. Biol. 15, 757 (1967).

<sup>4</sup> R. C. NAIRN, *Fluorescent Protein Tracing* (Livingstone Ltd., Edinburgh and London 1964), p. 130.

<sup>5</sup> S. AVRAMEAS, Immunochemistry 6, 43 (1969).

<sup>6</sup> P. K. NAKANE et G. B. PIERCE JR., J. Cell. Biol. 33, 307 (1967).

<sup>7</sup> G. BIZZI, C. STIFFEL, D. MOUTON, M. LIACOPOULOS-BRIOT, C. DECREUFOND et Y. BOUTHILLIER, Annls. Inst. Pasteur, Paris 110, suppl. 3, 7 (1966).

<sup>8</sup> E. R. CENTENO et A. H. SEHON, Fedn. Proc. 25, 726 (1966).

<sup>9</sup> S. AVRAMEAS, C. r. Acad. Sci. Paris 265, 302 (1967).

<sup>10</sup> J. W. ATHENS, A. Rev. Physiol. 25, 195 (1963).

<sup>11</sup> G. E. CARTWRIGHT, J. W. ATHENS, D. R. BOOGES et M. M. WINTROKE, Nouv. Rev. fr. Hémat. 5, 5 (1965).

<sup>12</sup> K. D. BEERNINK, J. COURCON et P. GRABAR, Immunology 9, 377 (1965).

<sup>13</sup> P. GRABAR, E. PISTI, J. COURCON et G. LESPINATS, Annls. Inst. Pasteur, Paris 107, 749 (1964).

<sup>14</sup> M. STANISLAWSKI, S. OISGOLD, J. URIEL et S. AVRAMEAS, dans *Protides of the Biological Fluids*, Proceedings of the 12th Colloquium, Bruges 1964 (Ed. PEETERS; Elsevier, Amsterdam 1965), p. 228.

<sup>15</sup> D. DUFOUR, A. TREMBLAY et S. LEMIEUX, Experientia 24, 1271 (1968).

<sup>16</sup> R. C. SKARNES, Nature 216, 806 (1967).

<sup>17</sup> J. G. HIRSCH, J. exp. Med. 103, 589 (1956).

<sup>18</sup> Centre de Biomédecine, Université Laval, Québec (Canada).