

used for subsequent serial transplantation in our studies. We are certainly agreeable to the comment made by DANIEL et al.³ that epithelial cells of mammary glands may be heterogenous with respect to their proliferative potential. It is not unusual to see coexistence of prelactating lobuloalveolar growth and resting ductal branches in the same mammary gland during pregnancy in mice. Therefore, the capability of transplanted mammary parenchymal tissues to regenerate new mammary glands is not age-dependent. The present experiments apparently support our previous hypothesis that the capability of

mammary parenchymal tissue to survive in vivo is indefinite if the environmental conditions are favourable.

Zusammenfassung. Durch wiederholte Transplantation liess sich Mammagewebe von Mäusen während einer Zeitspanne am Leben erhalten, welche die Lebensdauer von Mäusen wesentlich übertrifft.

K. HOSHINO

University of Western Ontario,
Health Sciences Centre, Department of Anatomy,
London (Ontario, Canada), 12 May 1970

Abtransport von Schwefelverbindungen aus Bohnenprimärblättern (*Phaseolus vulgaris*) nach Begasung mit H_2^{35}S

Schwefelwasserstoff wird durch Blätter aufgenommen, oxidiert oder metabolisiert¹. Neben dem überwiegenden Oxidationsprodukt SO_4^{2-} können in den Blättern schwefelhaltige, primäre Amine nachgewiesen werden, die nicht den natürlichen Schwefelaminosäuren entsprechen². Es stellt sich die Frage, ob die erwähnten Verbindungen mobilisiert und wohin sie allenfalls transportiert werden.

Figur 1 zeigt das typische Markierungsmuster in einer ganzen Pflanze nach einer Primärblattfütterung mit frisch zubereitetem H_2^{35}S -Gas. Die Darstellung erfolgte durch Reduktion von $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ ³, Auffangen in 0,1 N NaOH und anschliessendem Austreiben mit 6 N HCl. Das Primärblatt wurde während 3 h in einer dichten Küvette begast (0,075 mg H_2^{35}S /100 ml). Nach 15 h wurde die ganze Pflanze abgetötet, autoradiographiert oder wie unten angegeben weiterbehandelt. Die halbseitige Markierung des ersten Trifoliums ergibt sich aus dem Leitbündelverlauf in der Pflanze, der andernorts beschrieben ist⁴. Augenfällig ist die Belieferung der wachsenden Sprossorgane.

Figur 2 gibt Aufschluss über den Ort des Transports im Leitbündel. Petiolastücke ausserhalb der Küvette wurden ohne Verlust der wasserlöslichen Substanzen durch Gefriersubstitution mit Äther präpariert⁵ und nach der trockenen Methode mikroautoradiographiert⁶⁻⁸. Die Schwefelverbindungen werden vorwiegend im Phloem transportiert. Auf Mikroautoradiographien von Stengelstücken unter- und oberhalb des Petiolaknotens konnten ebenfalls Phloemmarkierungen festgestellt werden, wobei

nur die Hälfte der Leitbündel im Stengelquerschnitt ^{35}S -Verbindungen führten. Daraus resultiert die halbseitige Markierung des ersten Trifoliums.

Die dünnstschichtchromatographische Analyse der wasserlöslichen Substanzen^{1,2} der Petiola ergab anorganische Schwefelverbindungen und die eingangs beschriebenen ^{35}S -haltigen, primären Amine. Figur 3 stellt die Autoradiographie eines Chromatogramms der Aminosäurenfraction dar. Die nummerierten Flecke entsprechen den ^{35}S -Aminen. Sie reagieren auf verschiedene Sprühreagenzien für Aminosäuren⁹.

¹ K. H. ERISMANN und R. BRÄNDLE, Flora, Jena, A 159, 379 (1968).

² R. BRÄNDLE, R. STRASSER und K. H. ERISMANN, Verh. schweiz. naturf. Ges. 68, 122 (1968).

³ C. M. JOHNSON, Analyt. Chem. 24, 736 (1952).

⁴ R. BRÄNDLE, U. FELLER und J. SCHNYDER, Verh. schweiz. naturf. Ges. 69, 145 (1969).

⁵ U. LÜTTGE und J. WEIGL, Planta 64, 28 (1965).

⁶ D. BRANTON und L. JACOBSON, Stain Technol. 37, 239 (1962).

⁷ K. SCHMITZ und J. WILLENBRINK, Z. Pflanzenphys. 58, 97 (1967).

⁸ K. SCHMITZ, Planta 91, 96 (1970).

⁹ E. STAHL, Dünnschichtchromatographie, 2. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1967).



Fig. 1. Autoradiographie einer Bohnenpflanze nach Primärblattfütterung mit H_2^{35}S . 2/3 natürliche Grösse.

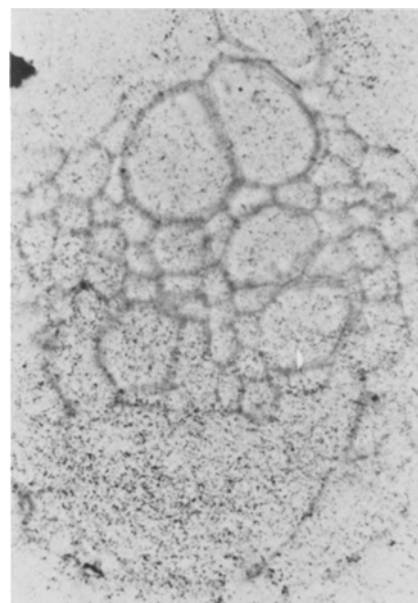


Fig. 2. Mikroautoradiographie eines Petiolaleitbündelquerschnitts nach H_2^{35}S -Fütterung des Blattes. $\times 2000$.

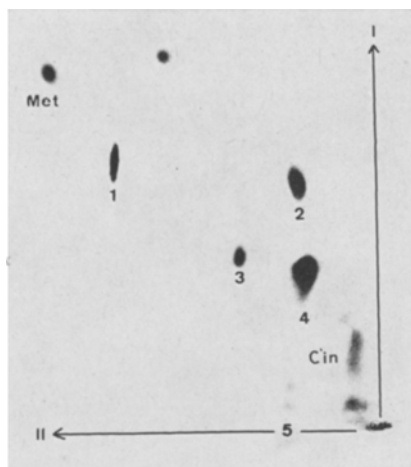


Fig. 3. Autoradiographie eines Dünnschichtchromatogramms der Aminosäurenfraktion des Petiolaextrakts. Met, Methionin; C'in, Cystin/Cystein; 1, 2, 3, 4, 5, primäre ^{35}S -Amine. I. Dimension: Butanol-Aceton-Diäthylamin-Wasser (10:10:2:5). II. Dimension: Isopropanol-Ameisensäure-Wasser (20:1:5).

Die Resultate deuten darauf hin, dass der toxische Schwefelwasserstoff im Blatt durch Oxidation oder Bindung entgiftet wird. Transportiert werden im Phloem

die im Blatt gebildeten Verbindungen. Die anorganischen Oxidationsprodukte stehen der Pflanze als Schwefelquelle zur Verfügung¹⁰. Der an primäre Amine gebundene Schwefel scheint weitgehend die toxischen Eigenschaften zu verlieren. Selbst bei grösserem H_2S -Angebot ($> 0,75$ mg/100 ml) stirbt nur das direkt vom Schwefelwasserstoff betroffene Organ ab¹¹. Offenbar besitzen die Pflanzen für geringe Mengen von Schwefelwasserstoff einen Entgiftungsmechanismus. Die Bedeutung der «unnatürlichen» Schwefelverbindungen im Stoffwechsel der Pflanze ist noch nicht geklärt. Sie ist das Ziel unserer Untersuchungen¹².

Summary. Some unnatural sulphur amino acids can be detected in the phloem of the vascular bundles from *Phaseolus vulgaris* after the application of H_2^{35}S to the primary leaves.

R. BRÄNDLE und J. SCHNYDER

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität, Altenbergrain 21, CH-3013 Bern (Schweiz), 4. September 1970.

¹⁰ W. RUHLAND, in *Handbuch der Pflanzenphysiologie* (Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1958), vol. 9.

¹¹ J. SCHNYDER und U. FELLER, persönliche Mitteilung.

¹² Die Arbeit wurde durch den Schweiz. Nationalfonds unterstützt.

Activation of Virus Production by DMSO in *C. albicans* Experimentally Infected with Polyoma-DNA¹

The propagation of mammalian virions in Protista was described by Kovács et al.²⁻⁴. The present report is concerned with the experimental transfer of a viral infection to the yeast-like fungus, *Candida*, by using the genome of Polyoma Virus (PyV). This is the confirmation of earlier work done by BAYREUTHER et al.⁵ who used a different experimental system, namely *B. subtilis* as a host. The enhancing effect of dimethyl sulphoxide (DMSO)⁶ on the infectivity of the isolated DNA of PyV was investigated^{7,8} and also will be presented.

Materials and methods. *C. albicans* was isolated from the vaginal discharge of a patient and carried through several hundred partially anaerobic passages in this laboratory. Technical details of the cultivation in submerged cultures, infection with virus and processing of the harvested cells were published²⁻⁴ together with growth, purification and quantitation of the large plaque variant of the T strain of PyV⁴. The DNA of the virus was extracted by the method of GIERER and SCHRAMM⁹ from partially purified supernatant of infected secondary cultures of mouse embryo cells. The criteria of a good preparation were: A typical UV-absorption curve, low DNase-labile infectivity, negative serologic reactions,

such as neutralization, hemagglutination (HA) and inhibition of hemagglutination (HI). After infection these tests gave positive results and there was no DNase lability, but CPE was demonstrated.

Results. A typical experiment is illustrated in the Table. Approximately 6×10^6 cells were washed once and taken up in 0.3 ml phosphate buffered saline (PBS) mixed with Py-DNA, all precooled, and left to interact for 6 min at 2°C. Following incubation, the cells and medium were separated and titrated^{3,4}. Addition of DMSO during or

¹ Supported by a grant of the National Cancer Institute of Canada.

² E. Kovács and B. Bucz, *Life Sci.* 6, 347 (1967).

³ E. Kovács, *J. Cell Biol.* 35, 73A (1967).

⁴ E. Kovács, B. Bucz and G. KOLOMPAR, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 132, 971 (1969).

⁵ K. E. BAYREUTHER and W. R. ROMIG, *Science* 146, 778 (1964).

⁶ M. S. AMSTEY and P. D. PARKMAN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 123, 438 (1966).

⁷ E. Kovács, *Ann. Rep. natn. Cancer Inst. of Canada*, 1967/68, p. 115.

⁸ E. Kovács, *J. Cell Biol.* 43, 73A (1969).

⁹ A. GIERER and G. SCHRAMM, *Nature, Lond.* 117, 702 (1956).

Effect of DMSO on infectivity of PyV-DNA in *C. albicans*

Experiment, medium (incubation 4 h/37°C)	Inoculum (no HAU/system)	Final yield as HAU/system	Serologic test of cell homogenates
Exp 74-A, medium 1415 + sucrose	0.5 ml PyV-DNA	1100	HI = + (1:8/0.2 ml)
Exp 74-B, medium 1415 + sucrose	+ 5% DMSO after adsorption	2100	HI = + (1:16/0.2 ml)
Exp 74-C, medium 1415 + sucrose	60% DMSO at adsorption	5970	HI = + (1:32/0.2 ml)
Control, medium 1415 + sucrose	0.5 ml heterolog. DNA + 60% DMSO	nil	nil