

buffer at pH 5.7. The preparations were rinsed in tap water and mounted in distilled water. The observations were carried out under the ML-2 fluorescent microscope (USSR) using phase contrast, light and fluorescent microscopy.

The observations have shown that fluorescent site of the Y chromosome is associated with the nucleolus. In the neurons, especially in the large ones, during fluorescent microscopy the nucleolus appears differently to the rest of the nucleoplasm and is frequently surrounded by a fluorescent rim of chromatin (Figure 1a) against the back-

ground of which contrasts the brightly fluorescent body of the chromosome. After staining the preparation with methyl green pyronine according to the standard technique, it was examined through passing light and the preliminary suggestions have been confirmed that the body in the nucleus corresponds to the nucleol (Figure 1b).

In order to identify the nucleoli rapidly in studies of a large number of nuclei under the fluorescent microscope, phase contrast microscopy was used (Figures 2b, 3b and 4b). Staining using methyl green pyronine and phase contrast were compared. Both techniques proved to be equally good for nucleoli identification. In addition, phase contrast microscopy made it possible to discern cases when lipofuscin or lipids due to the type of their fluorescence resemble the Y chromosome.

The fluorescent body of the Y chromosome usually has the figure of a crescent lying close to the concave part of the nucleolus. It seems that the Y chromosome is one of the accumulations in the nuclei of the neurons, the so-called paranucleolar chromatin are identical.

Sexual dimorphism in the preparations was clear-cut. In the brain of female origin, only weak fluorescence of the chromatin structures was observed, including the nuclear chromatin. Counts of nuclei in the neurons of the brain of male origin containing both the fluorescent site of the Y chromosome and the nucleolus show that these 2 structures are often associated.

An association between the nucleoli and the Y chromosome in the interphase cells of cultures of human fibroblasts was reported by BOBROW et al.<sup>3</sup>, and the same association in the lymphocyte tissue by GAGNE and LEBERGE<sup>4</sup>.

Thus, the association of the fluorescent site of the Y chromosome and the nucleolus seems to be a general rule for the tissues of man, just as the localization of sex chromatin on the nuclear membrane.

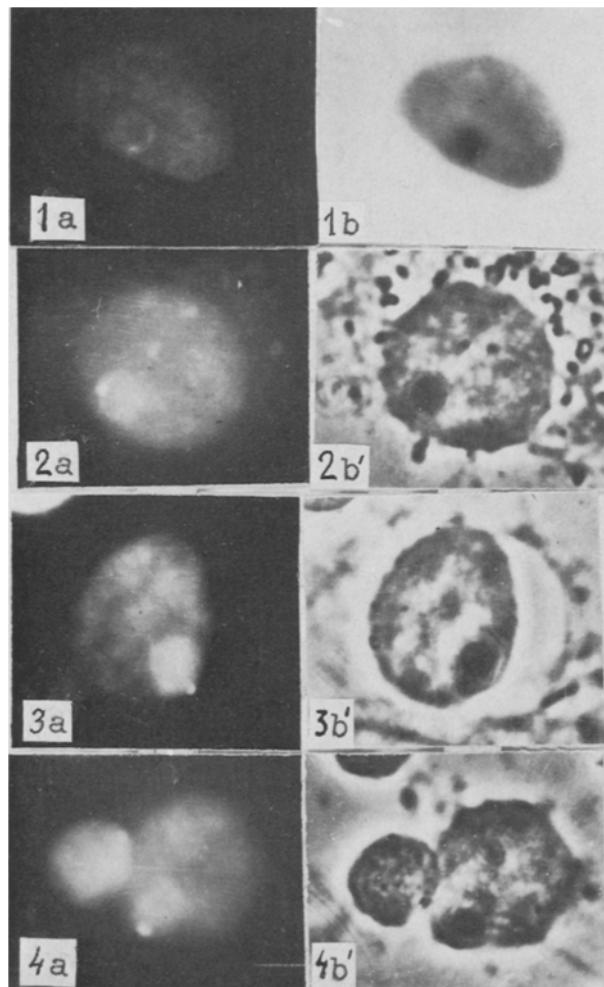
**ВЫВОДЫ.** Люминесцентной микроскопией изучалась локализация У-хромосомы в интерфазных ядрах клеток различных отделов головного мозга человека после окраски акрихином или акрихин-ипротом. Обнаружена преимущественная ассоциация У-хроматина с ядрышком, подтверждаемая цитохимически и фазово-контрастной микроскопией.

L. I. GOLDGEFTER, N. Y. GAKHOV, A. F. GANIN and A. N. MOSOLOV

*Novosibirsk's Medical Institute, 52 Krasny Prospekt, 630091 Novosibirsk (USSR), 24 April 1973.*

<sup>3</sup> M. BOBROW, P. L. PEARSON and H. E. A. C. COLLOCOT, Nature, Lond. 232, 556 (1971).

<sup>4</sup> R. GAGNE and C. LEBERGE, Can. J. Genet. Cytol. 13, 128 (1971).



Nuclei of neurons of the human brain. 1. The hypothalamus. 2. The cortex. 3. The medulla. 4. The pont. a) staining by quinacrine dihydrochloride and quinacrine mustard; b) staining by methyl green-pyronine; b') phase contrast.  $\times 1400$ .

### Étude génétique de mutants Mal induits par la nitrosoguanidine chez *Escherichia coli*

Deux loci, *malA* et *malB*, sont impliqués dans le métabolisme du maltose chez *E. coli*<sup>1</sup> alors que les gènes *uvrA*<sup>2,3</sup> et *exrA*<sup>4,5</sup>, localisés dans la région *malB*, confèrent à la souche B, déjà plus sensible aux ultraviolets que la plupart des autres souches de cet organisme, une sensibilité encore plus grande à cet agent.

Après avoir évalué la fréquence de mutation de différents marqueurs génétiques de même que le taux de réversion de mutants Mal induits dans B251 par NG, nous avons déterminé l'appartenance des mutants Mal UVs à la région *malA* ou *malB* et avons procédé à une analyse génétique des mutants de type *malB* UVs.

*Matériel et méthodes.* 1. Souches bactériennes, bactériophages, sensibilité aux UV et transduction: Les propriétés génétiques des souches bactériennes et les méthodes utilisées sont déjà connues<sup>5</sup>. 2. Milieux et méthodes de culture: A moins d'avis contraire, ils sont tels que décrits par GREENBERG<sup>4,6</sup>. 3. Modification du phage par l'hôte «host cell reactivation»: Cette méthode a été décrite autre part<sup>3</sup>. 4. Sélection des mutants: Les bactéries d'une culture en phase logarithmique de la souche B251 (*malB λ<sup>s</sup>*), cultivées dans 5 ml de bouillon tryptone, sont lavées puis mises en suspension dans un volume égal de tampon TM (pH 5.5) contenant 50 µg/ml de NG. Après 30 min de traitement, 1 ml de maltose 10% et 1 ml de tampon TM sont ajoutés à la suspension. Le tout est incubé à 37°C pendant 3 h pour être ensuite étalé, sans dilution, sur milieu indicateur TTC contenant du maltose<sup>3</sup>.

*Résultats et discussion.* 900 mutants Mal, purifiés et testés de façon appropriée, furent sélectionnés puis classés selon leur sensibilité aux UV et à  $\lambda$  (Tableau I). Environ 10% d'entre eux furent abandonnés à cause d'une susceptibilité aux UV plus ou moins stable. Les souches auxotropes et de type «leaky», facilement distinguées sur milieu indicateur TTC et DM maltose, se chiffraient respectivement à 27% et à 9%. Il est connu

que l'effet de NG sur le chromosome bactérien touche un grand nombre de sites à la fois<sup>7</sup>; et le fait que certains des mutants analysés pouvaient différer de la souche originelle par un ou plusieurs caractères à la fois, confirme ces résultats.

Fréquence de réversion. L'étalement d'environ 10<sup>10</sup> cellules/ml sur milieu DM maltose nous a permis de constater que le taux de réversion des souches mutantes est très variable (Tableau II). Selon l'hypothèse de Demerec<sup>8</sup>, il semble que l'absence de réversions manifestée dans 46% des cas soit attribuable à de la délétion.

Classification en *malA* ou *malB*. L'appartenance des mutants Mal UV<sup>s</sup> à *malA* ou *malB* a été déterminée par transduction, selon la technique utilisée plus tôt par SINGH<sup>9</sup>. Nous avons pu ainsi démontrer qu'environ 40% de ces souches mutantes, au phénotype très similaire, étaient de type *malA* et 60% *malB* (Tableau III). Il semble donc que ces deux loci, l'un et l'autre impliqués dans le métabolisme du maltose, montrent une sensibilité différente à NG. Il est difficile à ce point de conclure de façon définitive et d'attribuer cette variation à des différences dans l'activité perméasique de ces deux gènes ou à une séquence de bases plus sensibles à cet agent dans le locus *malB*. Il nous a également été permis de constater qu'à la suite de la transduction du caractère Mal<sup>+</sup> de B251 et AB1911 (*malB<sup>+</sup>λ<sup>s</sup>*) dans 12 mutants *malB*, 80-90% des recombinants obtenus pour 11 d'entre eux étaient aussi résistants aux UV que la souche donneuse; alors que dans un cas, l'acquisition simultanée de ces deux caractères n'était réalisée que dans 19% des cas. La nature de ce phénomène, restreignant ainsi la cotransduction du caractère Mal<sup>+</sup> avec la résistance aux UV, n'est pas très claire.

Modification du phage par l'hôte. La souche Bs-2 (*exrA HCR<sup>+</sup>*) peut réactiver les phages préalablement traités aux UV alors que Bs-1 (*exrA HCR<sup>-</sup>*) et AB1886 (*uvrA HCR<sup>-</sup>*) en sont incapables<sup>3,4</sup>. Or environ 18% de nos mutants Mal UV<sup>s</sup> étaient de type HCR<sup>-</sup>.

*Summary.* In the course of the present investigations, NG induced Mal mutants of *E. coli* B were subjected to the following studies: 1. mutation rate for different genetical characters; 2. frequency of reversion to wild type; 3. classification of Mal UV<sup>s</sup> mutants for *malA* or *malB*; 4. genetical analysis of the *malB* UV<sup>s</sup> mutants. It was found that approximately 40% of the Mal UV<sup>s</sup> mutants mapped at *malA* and 60% at *malB*.

Y. S. CHUNG et C. HAMELIN<sup>10</sup>

Département des Sciences biologiques  
Université de Montréal, C. P. 6128, Montréal 101,  
(Québec, Canada), 13 avril 1973.

Tableau I. Répartition des différents mutants Mal d'après leur sensibilité aux UV et à  $\lambda$

Fréquence (%)		
	$\lambda$	
UV	$\lambda^r$	$\lambda^s$
16.4 (Bs-2)	8.9	7.5
53.0 (B)	36.0	17.0
21.6 (B/r)	10.6	11.0

La susceptibilité des différentes souches mutantes aux UV a été déterminée en la comparant à celle des souches Bs-2, B et B/r.

Tableau II. Répartition des mutants Mal d'après la fréquence de réversion enregistrée pour chaque souche après étalement d'environ 10<sup>10</sup> cellules/ml sur milieu DM contenant du maltose

Fréquence de réversion (%)		
Non révertants	Révertants	
	$<10^{-8}$	$<10^{-6}$
46	36	18

Tableau III. Répartition des mutants Mal UV<sup>s</sup> selon leur appartenance à *malA* ou *malB* et leur susceptibilité au phage  $\lambda$

Fréquence (%)			
<i>malA</i>	<i>malB</i>	$\lambda^r$	$\lambda^s$
40	60		
82	18	61	39

<sup>1</sup> M. SCHWARTZ, J. Bact. 92, 1083 (1966).

<sup>2</sup> I. E. MATTERN, H. ZWENK et A. RÖRSCH, Mutation Res. 3, 374 (1966).

<sup>3</sup> J. GREENBERG, Genetics 55, 193 (1967).

<sup>4</sup> J. GREENBERG, Genetics 50, 639 (1964).

<sup>5</sup> Y. S. CHUNG et J. GREENBERG, Genetics 59, 11 (1968).

<sup>6</sup> J. GREENBERG, Genetics 49, 771 (1964).

<sup>7</sup> E. A. ADELBERG, M. MANDEL et G. C. C. CHEN, Biochim. biophys. Res. Commun. 18, 788 (1965).

<sup>8</sup> M. DEMERECK, Proc. natn. Acad. Sci. USA 40, 1075 (1960).

<sup>9</sup> M. P. SINGH, Y. S. CHUNG et J. GREENBERG, Experientia, sous presse (1973).

<sup>10</sup> Ce travail a été réalisé grâce au support financier du Conseil National des Recherches du Canada.