

Uterus gegenüber anderen Organen keineswegs durch eine besondere Anhäufung ausgezeichnet. Die Organ-konzentration im spezifisch beeinflussten Organ liegt also bei etwa $3 \cdot 10^{-8}$, das heißt bei einer Konzentration des östrogenen Stoffes, die etwa derjenigen der autonomen Wirkstoffe entspricht.

R. MEIER und E. TSCHOPP

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 6. März 1946.

Summary

After administration of methylbisdehydrodisynolic acid (1-ethyl-2-methyl-7-methoxy-tetrahydro-phenan-tryl-2-carbonic acid) the content of this oestrogen in the uterus of the spayed rat has been determined. It has been found, that a concentration of 3–4 μ /100 g uterus tissue is necessary for the growth reaction of the organ. The concentration in the uterus lies between the concentration of muscle and liver. So the specific sensitivity of the uterus must be responsible for his reaction to an oestrogen.

La spécificité de la réaction de Feulgen pour la détection de l'acide thymonucléique

La réaction de Feulgen est employée couramment pour la détection de l'acide thymonucléique; mais récemment STEDMAN et STEDMAN^{1,2,3} et CARR⁴ ont émis certains doutes sur sa spécificité. STEDMAN et STEDMAN pensent que le colorant formé au cours de la réaction entre l'acide thymonucléique et l'acide fuchsine sulfureux serait soluble: il ne se fixerait pas *in situ* sur l'acide thymonucléique, mais il surcolorerait secondairement une protéine acide, fortement basophile, présente dans la chromatine (chromosomine). C'est pourquoi STEDMAN doute fortement de ce que l'acide thymonucléique soit un constituant de la chromatine; ce point de vue audacieux a été d'ailleurs critiqué par CALLAN⁵, par CASPERSSON⁶ et par SERRA⁷. Quant aux objections de CARR, elles résident notamment dans le fait que l'hydrolyse acide préalable à la réaction colorée détruirait presque tout le cytoplasme sans toucher le noyau: celui-ci seul donnerait la réaction parce que le cytoplasme se serait réduit à un «fantôme» au cours de l'hydrolyse. En outre, CARR estime que la réaction de Feulgen est due à une adsorption du colorant formé au niveau des chromosomes et non à une réaction chimique localisée, pour la raison suivante: si on ajoute un excès considérable de SO_2 au réactif ou si on traite une coupe hydrolysée par de l'eau riche en SO_2 avant de la plonger dans le réactif, on obtient une réaction normale; or, selon CARR, le désoxyribose aurait du réagir avec l'excès de SO_2 et la réaction aurait donc dû être négative.

Les expériences suivantes ont eu pour but de rechercher si ces critiques sont réellement valables:

1° CALLAN⁵ et SERRA⁷ ont fait remarquer que la réaction de Feulgen devient négative lorsqu'on traite une préparation microscopique par de la thymonucléodépolymérase. Nous avons pu confirmer ce fait en utilisant une préparation enzymatique très active préparée

suyant la méthode de FISCHER¹ et coll.: à condition d'activer l'enzyme par l'addition d'ions Mg^{++} , on obtient la disparition totale de la réaction de Feulgen et de la basophilie de la chromatine en quelques minutes, tandis que la basophilie cytoplasmique, due à l'acide ribonucléique, se maintient. On retrouve de l'acide thymonucléique libéré dans la solution enzymatique, si on effectue la réaction de DISCHE² sur celle-ci. Ces résultats suggèrent que la basophilie de la chromatine est due, non pas à la chromosomine, mais à l'acide thymonucléique. Notons en passant que l'acide thymonucléique résiste à l'action de l'enzyme dans le cas de certains noyaux (spermatozoïdes de Mammifères, globules rouges de Batraciens): peut-être l'acide thymonucléique se trouve-t-il, dans ces noyaux, sous une forme différente ou est-il lié plus étroitement aux protéines.

2° On n'observe pas de dissolution appréciable du cytoplasme lorsqu'on surcolore par un colorant acide. L'hydrolyse ne détruit donc pas le cytoplasme dans ces conditions, mais elle fait disparaître la basophilie cytoplasmique en attaquant sans doute l'acide ribonucléique.

3° En ce qui concerne les effets d'un excès de SO_2 , nous avons retrouvé les résultats de CARR; mais nous avons constaté que la réaction de Feulgen donnée par l'acide thymonucléique *in vitro* n'est pas non plus influencée par l'addition de grosses quantités de SO_2 . Il faut en conclure que le produit de l'hydrolyse acide de l'acide thymonucléique (acide thyminique) ne réagit pas avec SO_2 . Il réagit par contre avec SO_3NaH (en milieu non acide), dont un excès bloque la réaction de Feulgen *in vitro*; un traitement de coupes microscopiques par SO_3NaH , intercalé entre l'hydrolyse acide et la réaction colorée, bloque également le développement de la réaction de Feulgen, comme l'ont montré FEULGEN et VOIT³ et comme nous l'avons vérifié. Le comportement de l'acide thymonucléique vis-à-vis de SO_2 et de SO_3NaH est donc identique sur coupes et *in vitro*.

4° Enfin, nous avons recherché si l'acide thymonucléique résiste à l'hydrolyse acide ou s'il se dissout au cours de celle-ci. Dans une première série d'expériences, une suspension de globules rouges de Poulet ou de noyaux isolés de ces globules rouges a été traitée par HCl N pendant 5 minutes à 60° C. Dans certains cas, le matériel avait été préalablement fixé au Zenker ou à l'alcool. Après l'hydrolyse, on centrifugeait et dosait l'acide thymonucléique dans le liquide et le culot par la méthode de DISCHE²: la réaction a toujours été négative dans le liquide d'hydrolyse et on retrouvait la totalité de l'acide thymonucléique dans le culot.

Une seconde expérience a consisté à fixer à l'alcool ou au Zenker de l'acide thymonucléique hautement polymérisé préparé par la méthode de FEULGEN; les précipités furent enrobés dans de l'agar, puis de la paraffine et coupés au microtome. Si on effectue la réaction de Feulgen sur ces coupes, on obtient une coloration intense; cette coloration est parfaitement localisée au précipité après fixation au Zenker, plus diffuse après fixation à l'alcool.

Ces deux expériences montrent clairement que l'acide thymonucléique ne se dissout pas de façon appréciable au cours de l'hydrolyse préalable à la réaction de Feulgen. On peut conclure de ces divers essais qu'il

¹ E. STEDMAN, Edinb. medic. J. 51, 353 (1944).

² E. STEDMAN et E. STEDMAN, Nature 152, 267, 505, 556 (1943).

³ E. STEDMAN et E. STEDMAN, Nature 153, 503 (1944).

⁴ J. G. CARR, Nature 156, 143 (1945).

⁵ H. G. CALLAN, Nature 152, 503 (1943).

⁶ T. CASPERSSON, Nature 153, 499 (1944).

⁷ J. A. SERRA, Bol. Soc. Broteriana 17, 203 (1943).

¹ F. G. FISCHER, I. BÖTTGER et H. LEHMANN-ECHTERNACHT, Z. physiol. Chem. 271, 246 (1941).

² Z. DISCHE, Mikrochem. 2, 4 (1930).

³ R. FEULGEN et K. VOIT, Pflügers Arch. ges. Physiol. 206, 389 (1924).

n'y a pas, à l'heure actuelle, de raison impérieuse de douter de ce que la réaction de Feulgen permet bien la détection *in situ* de l'acide thymonucléique.

J. BRACHET

Laboratoire de Morphologie animale. Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 11 mars 1946.

Summary

A number of experiments all led to the conclusion that the Feulgen reaction is a valuable test for the *in situ* localization of thymonucleic acid: there is thus no serious reason to doubt that this acid is a constituent of chromatin and chromosomes.

Localisation de la phosphatase alcaline pendant le développement des Batraciens

La localisation de la phosphatase alcaline pendant le développement de l'embryon de Poulet a été étudiée, au moyen de la méthode cytochimique de GOMORI¹, par F. MOOG². La réaction est déjà fortement positive dans le blastoderme non incubé, donc dès le moment où se forme la ligne primitive; ce sont surtout les noyaux et le vitellus qui se colorent. Selon MOOG, il n'existe pas de proportionnalité directe entre la teneur en phosphatase alcaline des noyaux et leur aptitude à la multiplication; l'enzyme interviendrait surtout dans les phénomènes d'organogénèse, plutôt que dans ceux de différenciation histologique.

Il était utile de rechercher si ces conclusions peuvent être étendues à d'autres espèces, aux œufs de Batraciens par exemple: ceux-ci permettent en effet d'étudier la localisation de la phosphatase alcaline dès la fécondation et de suivre, par conséquent, ce ferment pendant la segmentation, la gastrulation et l'induction primaire; ces stades importants du développement ne peuvent en effet guère être examinés dans le cas de l'embryon de Poulet. La méthode utilisée était celle de GOMORI et de MOOG; elle a été appliquée aux œufs d'*Axolotl* et de *Xénope*, qui se sont comportés de manière quasi identique.

Voici les résultats principaux de cette étude:

1° Pendant la *segmentation*, la chromatine des noyaux ne fournit qu'une très faible réaction, qui ne s'intensifie pas dans les chromosomes en mitose. La réaction est négative dans le suc nucléaire et le fuseau; le vitellus se colore légèrement en raison de l'existence, au niveau des plaquettes, de phosphates préformés.

2° Au cours de la *gastrulation*, la réaction s'intensifie légèrement dans les noyaux; cette intensification paraît d'ailleurs résulter plutôt de l'enrichissement en chromatine des noyaux, par rapport aux stades précédents, que d'une élévation de la teneur en phosphatase alcaline de la chromatine elle-même. On n'observe pas encore de différences entre les cellules qui donnent naissance aux divers feuilletts.

3° Pendant la *neurulation*, on remarque que la chromatine des cellules appartenant aux feuilletts superficiel et moyen réagit plus fortement que dans l'entoblaste. Le vitellus des cellules du système nerveux et du chordomésoblaste se colore, lui aussi, plus intensément que dans l'entoblaste. Ces différences s'accroissent à mesure que la neurulation progresse; à la fin de celle-ci, l'intensité de la réaction, tant dans les noyaux que

le vitellus, suit la série suivante: système nerveux > chorde, somites > épiderme > endoderme. Un fait curieux, qui n'a d'ailleurs pu être observé que chez l'*Axolotl*, est que les noyaux et le vitellus des cellules de la pièce intermédiaire réagissent avec une intensité exceptionnelle à ce stade. Dans le système nerveux, la coloration est plus forte dans la région postérieure que dans le cerveau.

4° Dans les *jeunes têtards*, la réaction s'intensifie considérablement, tant dans les noyaux que le vitellus; c'est dans les crêtes ganglionnaires et le mésenchyme qu'elle est la plus forte. Viennent ensuite: le système nerveux, la cupule optique (qui réagit plus fortement que le cristallin en voie de différenciation) les somites, le pronéphros et la chorde. La réaction est plus faible dans l'épiderme, la vésicule auditive, les cellules sanguines. Elle est presque négative dans l'endoderme, surtout dans sa moitié postérieure encore indifférenciée.

Insistons encore sur le fait que, quel que soit le stade considéré, la coloration des chromosomes n'est jamais supérieure à celle de la chromatine des noyaux au repos. Il en va d'ailleurs de même chez un Invertébré (œufs de *Tubifex*), où on note également une intensification progressive de la réaction au niveau des noyaux à mesure que le développement progresse.

On peut tirer de ces observations les conclusions suivantes, qui cadrent bien avec celles de MOOG:

1° les noyaux des cellules embryonnaires, aux stades, où l'activité mitotique l'emporte sur les autres, n'ont qu'une teneur très faible en phosphatase alcaline;

2° ce ferment ne paraît pas jouer de rôle important lors de la gastrulation et de l'induction primaire;

3° la phosphatase alcaline apparaît en grandes quantités, dans le noyau et le cytoplasme, au moment où l'organogénèse se produit.

J. BRACHET

Laboratoire de Morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université de Bruxelles, le 11 mars 1946.

Summary

The localization of alkaline phosphatase has been studied in the early development of Amphibian embryos; there is very little enzyme present, even in the nuclei and the chromosomes, during cleavage and gastrulation stages. A marked increase of the enzyme content of both nuclei and yolk occurs only in post-neurula stages. Alkaline phosphatase probably plays no important part in thymonucleic acid synthesis, morphogenetic movements and primary induction, but might be essential in organogenesis.

Sur l'influence de l'aneurine sur la formation des nodosités bactériennes nitrogènes

La fixation de l'azote atmosphérique par les bactéries des nodosités de certaines plantes, les Papilionacées en particulier, constitue un des facteurs les plus intéressants pour l'enrichissement du sol en azote. Comme l'expérience a montré que des cultures de ces bactéries étaient influencées favorablement par l'aneurine, on pouvait se demander si l'adjonction de cette vitamine au sol serait capable de favoriser la production de ces nodosités.

BOTTOMLEY avait déjà dans ses travaux sur les auximones constaté que des extraits de tourbe bactérisés favorisaient la croissance de telles bactéries (*B. radicola*, *Azotobacter chroococcum*). Cette action devait en partie être vitaminique, mais à cette époque, l'aneurine n'était pas encore bien définie.

¹ G. GOMORI, J. cell. compar. Physiol. 17, 71 (1941).

² F. MOOG, Biol. Bull. 86, 51 (1944).