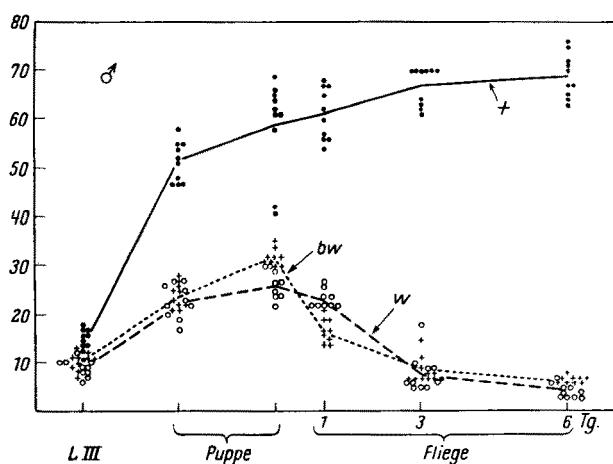


Ordinate die Ausschläge des an die Photozelle angeschlossenen Galvanometers nach Abzug der Papierblindwerte aufgetragen. Es wurde mit Propanol-Ammoniak die Gesamtkörpersubstanz von je 2 männlichen Individuen der 3 Genotypen +, *w* und *bw* chromatographiert. Dabei kamen die folgenden 6 Stadien (Abszisse) zur Untersuchung: verpuppungsreife Larven (L III), eintägige und schlüpfreife Puppen sowie Fliegen im Alter von 1,3 und 6 Tagen. Die Fluoreszenzwerte der Einzelmessungen sind mit Punkten (+ = Wildrasse), Kreuzen (*bw*) und Kreisen (*w*) angegeben. Wie die Mittelwertskurven zeigen, steigt der Gehalt an Isoxanthopterin bei der Wildrasse zu Beginn der Metamorphose sehr stark an. Die am Ende der Puppenzeit erreichte Konzentration wird nach dem Schlüpfen der Imagines nicht nur beibehalten, sondern noch leicht erhöht. Aber auch in den beiden Mutanten kommt es während der Metamorphose zunächst zu einer starken Vermehrung des Isoxanthopterins. Nach dem Schlüpfen der Fliegen sinkt dann aber die Konzentration des Isoxanthopterins bei *w* und *bw* rasch ab. Nach dem 3. Imaginaltag ist bei den beiden Genotypen dieser Stoff nicht mehr nachzuweisen. In unserer Abbildung erscheinen die Messwerte allerdings noch nicht auf Null abgesunken. Dies beruht lediglich auf dem Fluoreszenzlicht, das von anderen Stoffen ausgeht, die denselben Rf-Wert haben wie Isoxanthopterin.



Wie wir früher zeigen konnten, wird der nun als Isoxanthopterin identifizierte Stoff «Fl 3» auch im Körper von Weibchen der Wildrasse gebildet<sup>1</sup>. Dabei erreicht die Konzentration aber kaum mehr als 15% der für Männchen charakteristischen Menge. Dieser geschlechtspezifische Unterschied beruht darauf, dass die sich gelb färbenden Hoden viel mehr Isoxanthopterin enthalten als die unpigmentierten Ovarien. Wir konnten jetzt feststellen, dass Weibchen der Mutanten *w* und *bw* ebenfalls Isoxanthopterin akkumulieren. Die Menge ist allerdings durchweg niedriger als bei den Männchen der entsprechenden Genotypen. Doch zeigt sich auch bei den *w*- und *bw*-Weibchen der für Männchen charakteristische pupale Anstieg mit nachfolgendem Abfall auf den imaginalen Nullwert.

Ich danke meinem Kollegen Herrn Prof. P. KARRER herzlich für seine wertvollen Ratschläge und für sein Interesse, das uns ermöglichte, die chemischen Untersuchungen in seinem Institut durchzuführen. Meinen Mitarbeitern, den Herren M. VISCONTINI und M.

<sup>1</sup> E. HADORN und H. K. MITCHELL, Proc. Nat. Acad. Sci. 37, 650 (1951).

SCHOELLER, bin ich zu besonderem Dank dafür verpflichtet, dass ihre noch unveröffentlichten Ergebnisse in der vorliegenden Mitteilung verwertet werden konnten.

E. HADORN

Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut der Universität Zürich, den 15. November 1954.

### Summary

The content of isoxyanthopterine in different developmental stages and different genotypes of *Drosophila melanogaster* has been investigated. In male pupae of the red eyed wild type the isoxyanthopterine reaches a high concentration which is maintained during the whole period of imaginal life. It could be shown that the mutants *w* (white) and *bw* (brown) though they are unable to synthesize the red eye pigment do nonetheless accumulate considerable quantities of isoxyanthopterine during metamorphosis. This isoxyanthopterine, however, disappears gradually from the body of *w* and *bw* during the first 3 days of imaginal life till nothing of it is left in adult flies. The transitory appearance of isoxyanthopterine in the two mutants, sets new problems with regard to the pleiotropic effect of the *w*- and *bw*-loci in pigment synthesis.

### Antikörperproduktion mit isolierter Bakterienzellwand und mit Protoplasten

In einer früheren Arbeit<sup>1</sup> haben wir mit immunochemisch-zytologischen Methoden nachgewiesen, dass das Lysozym bei einem lysozymempfindlichen Bazillus auf die Zellwand einwirkt. Die Zellwand-Polysaccharide werden in einigen Minuten depolymerisiert, die Zellwandstruktur wird dadurch lockerer und ihre formbestimmende Wirkung hört auf. Die mit einer elastischen Zytoplasmamembran ausgestatteten Protoplasten nehmen infolgedessen eine durch die Oberflächenspannung bedingte regelmäßige sphärische Form an. Die Zellwand löst sich alsbald vollkommen auf, und die kugelförmigen Protoplasten werden freigesetzt. Wir haben diese Versuche mit lebenden Bakterien durchgeführt, die in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert worden waren. In diesem Milieu entleert sich der Inhalt der Protoplasten mehr oder weniger rasch; nur die Zytoplasmamembran bleibt noch einige Stunden im Phasenkontrast-Mikroskop sichtbar.

WEIBULL<sup>2</sup> hat unsere Beobachtungen über die Lysozymwirkung auf die Zellstruktur bei *B. megaterium* bestätigt und erkannt, dass die kugelförmigen Protoplasten in 0,1–0,2 mol Saccharose konserviert werden können. Sie weisen im Warburg-Apparat den gleichen Sauerstoffverbrauch auf wie die lebenden intakten Bakterien.

Diese Befunde ermöglichten es, die nackten Bakterienprotoplasten chemisch zu studieren<sup>3</sup>; ihr serologisches Verhalten jedoch wurde bisher noch nicht untersucht. Der Zweck dieser Mitteilung ist, über die völlig verschiedene Antigenatur der Protoplasten im Vergleich zu denjenigen der Zellwand zu berichten.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit *Bacillus M* durchgeführt, dessen Oberflächenstrukturen eine weitgehende Ähnlichkeit mit denjenigen des *B. megaterium* zeigen<sup>4</sup>. *Bacillus M* ist gegenüber Lysozym sehr

<sup>1</sup> J. TOMCSIK und S. GUEX-HOLZER, Schweiz. Z. Path. Bakt. 15, 517 (1952).

<sup>2</sup> C. WEIBULL, J. Bact. 66, 688 (1953).

<sup>3</sup> C. WEIBULL, J. Bact. 66, 696 (1953).

<sup>4</sup> J. TOMCSIK und S. GUEX-HOLZER, Schweiz. Z. Path. Bakt. 14, 515 (1951); 17, 221 (1954).

empfindlich. Seine Protoplasten enthalten weniger Lipoidkörnchen als diejenigen von *B. megaterium*, und sie bleiben in Saccharoselösung im Eisschrank selbst während 5 Tagen unverändert.

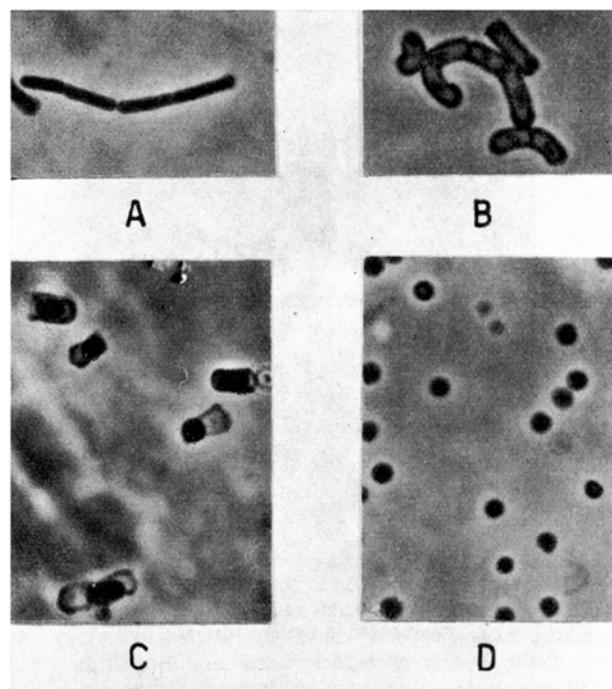


Abb. 1.

Zur Herstellung der zellwandfreien Protoplasten wurden die Bakterien in Gladstone-Fildes-Bouillon bei 28°C unter steriler Luftdurchströmung 14 h lang gezüchtet und nach Abzentrifugieren in 10,3% Saccharoselösung aufgenommen. Die Suspensionsdichte entsprach Röhrchen 3 der McFarlandschen BaSO<sub>4</sub>-Standardserie. Nach Zugabe von  $\frac{1}{4}$  Vol. 1:100 verdünntem Eiklar erfolgte bei 20°C die vollkommene Auflösung der Zellwand innerhalb einer halben Stunde und die Freisetzung der intakten kugelförmigen Protoplasten. Diese wurden mit Saccharoselösung gewaschen und zur Produktion der Antikörper in dreitägigen Abständen zehnmal intravenös in Kaninchen gespritzt.

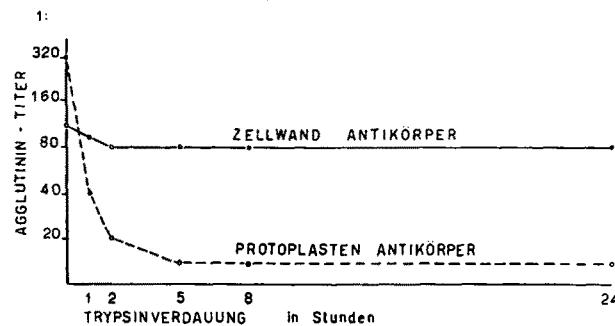


Abb. 2. Einfluss der Trypsinverdauung auf die Agglutinierbarkeit der Bakterien durch Zellwand- und Protoplasm-Antikörper.

Das Zellwandpräparat wurde aus den gleichen Bakterien durch Trypsinverdauung (5 mg pro 1 ml) bei 37°C in 16 h gewonnen<sup>1</sup>. Die Kaninchenimmunisierung mit

dem Zellwandpräparat geschah auf die gleiche Art wie mit den Protoplasten.

Abbildung 1A zeigt die intakten, B die mit Trypsin während 16 h verdauten Bazillen im Phasenkontrastmikroskop. Abbildung 1C veranschaulicht die mit Lysozym verdauten Bakterien nach 15' Behandlung und D die freien Protoplasten nach 30' Lysozymbehandlung. Zur besseren Darstellung der Zellwand wurde den Präparaten B und C Polysaccharid-Antikörper zugegeben.

Die serologischen Reaktionen der in Kaninchen gewonnenen Zellwand- und Protoplasm-Immunsäfte sind in der Tabelle zusammengefasst.

#### Serologische Reaktionen mit den Protoplasm- und Zellwand-Antisäften

| Serologische bzw. zytologische Reaktion        | Zellwand-Antiserum | Protoplasm-Antiserum |
|--|--------------------|----------------------|
| Spez. Kapsel-Polysaccharid-Re.                 | +                  | -                    |
| Spez. Zellwand-Re . . . . .                    | +                  | -                    |
| Polysaccharid-Präzipitation . . .              | +                  | -                    |
| Zellwand-Agglytination . . . . .               | 1:80               | -                    |
| Protoplasm-Agglytination . . . . .             | -                  | 1:80                 |
| Agglytination der lebenden Bakterien. . . . .  | 1:120              | 1:320                |
| Agglytination der erhitzten Bakterien. . . . . | 1:120              | -                    |

Anmerkung: Agglytintiter unterhalb 1:20 wurden in dieser Tabelle als negativ bezeichnet.

Das Zellwand-Antiserum enthält nur einen Antikörper, der für die meisten serologischen Reaktionen verantwortlich ist und der mit dem Kapsel- bzw. Zellwand-Polysaccharid absorbiert werden kann. Im Protoplasm-Antiserum konnte kein Polysaccharid-Antikörper nachgewiesen werden, doch reagiert es nicht nur mit den Protoplasten, sondern auch mit den lebenden Bakterien. Das Erhitzen der Bakteriensuspension auf 60°C hebt die agglutinierende Fähigkeit des Protoplasm- nicht aber diejenige des Zellwand-Antikörpers auf. Das thermolabile Antigen, mit dem das Protoplasm-Immunserum reagiert, muss somit ausser in den Protoplasten auch an der Oberfläche der Zellwand vorkommen. Die Thermo-labilität dieser Substanz lässt vermuten, dass es sich um einen Eiweisskörper handelt. Wie Abbildung 2 zeigt, wird diese Annahme dadurch bestätigt, dass bereits eine einstündige Trypsinverdauung der Bakterien ihre Agglutinierbarkeit durch den Protoplasm-Antikörper aufhebt.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Rockefeller-Stiftung durchgeführt.

J. TOMCSIK und S. GUEX-HOLZER

Hygienisches Institut der Universität Basel, den 27. Oktober 1954.

#### Summary

The cell wall of an aerobic bacillus isolated with trypsin treatment produces in rabbits a polysaccharide antibody which is responsible for the majority of the serological reactions of the cell surface.

After digestion of the cell wall polysaccharide with lysozyme, intact, naked protoplasts can be obtained in isotonic saccharose solution. This produces in rabbits an antiserum which contains no polysaccharide antibody and which reacts not only with the protoplasts but also with a thermolabile protein of the bacterial surface.

<sup>1</sup> J. TOMCSIK und S. GUEX-HOLZER, J. gen. Microbiol. 10, 317 (1954).