

maxima were found at 462 and 490 m μ . Absorption maxima of the aecial pigments in benzene were found at 475 and 510 m μ ; in hexane, at 462 and 495 m μ ; in carbon disulphide, at 500 and 530 m μ .

An aliquot of the petroleum ether extract was chromatographed on a column consisting of a mixture of equal parts of magnesia and Hyflo Super-Cel. The column was developed with petroleum ether and two zones appeared. These were eluted separately with petroleum ether containing a small quantity of methanol. The upper zone, pinkish orange in color, showed absorption maxima at 442, 465 and 492 m μ . With carbon disulphide as the solvent, maxima were found at 463, 497 and 535 m μ . By comparison with values reported in the literature¹, the pigment was identified as γ -carotene. The lower zone, orange in color, exhibited absorption maxima in petroleum ether solution at 425, 452 and 480 m μ . In carbon disulphide, the absorption maxima were shifted to 455, 485 and 520 m μ . These values agree closely with accepted values for β -carotene¹.

To determine the relative abundance of β - and γ -carotene, an aliquot of the original petroleum ether extract was chromatographed as before, and the two zones which separated were eluted with petroleum ether containing a trace of methanol, the volume of the eluting solvent being the same for the two bands. Values for the molar absorption coefficient of β -carotene² and of γ -carotene³ were taken from the literature. The optical density of the petroleum ether solution of β -carotene was determined at 450 and 477 m μ , and that of γ -carotene was measured at 462 and 494 m μ . From these measurements, four values of the proportion of β - and γ -carotene were calculated. All agreed within 1.4%, and gave an average of 66.5% γ -carotene and 33.5% β -carotene. These values agree within 2.5% with those previously reported for the proportion of these pigments in the telial stage of this rust⁴, and within 5.4% with the quantities reported in the pycnial stage⁵. It is noteworthy that the kinds and amounts of carotenoid pigments are essentially identical in three different stages of the rust, *Gymnosporangium juniperi-virginianae*, on different hosts.

F. T. WOLF and F. A. WOLF

Department of Biology, Vanderbilt University, Nashville, Tenn., and Department of Botany, Duke University, Durham, North Carolina, U.S.A., January 14, 1955.

Zusammenfassung

Die Untersuchung der Carotinoide aus den Äzidien des Rostpilzes *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw. ergab das Vorliegen von 66,5% γ -Carotin und 33,5% β -Carotin (Durchschnittswerte). Diese Werte stimmen mit denjenigen anderer Autoren für Teleutostadium und Pyknidenform überein. Art und Mengenverhältnis der Carotinoide in drei Stadien von *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw. (auf verschiedenen Wirtspflanzen) sind daher ungefähr identisch.

¹ P. KARRER and E. JUCKER, *Carotenoids* (Elsevier Publ. Co., N. Y., 1950), 384 pp.

² K. W. HAUSSER, *Z. angew. Chem.* 47, 657 (1934).

³ R. KUHN and H. BROCKMAN, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 66, 407 (1934).

⁴ B. L. SMITS and W. J. PETERSON, *Science* 96, 210 (1942).

⁵ B. L. SMITS and H. L. MITCHELL, *Science* 113, 296 (1951).

Antagonistische Wirkung von Mucoprotein Gottschalk gegenüber Shearschem Polysaccharid an isolierten Zellen

In den letzten Jahren sind spezifische Wirkungen von Polysacchariden, Mucopolysacchariden und Mucoproteinen tierischer und bakterieller Herkunft an isolierten Zellen beschrieben worden. So wirken nach unseren Befunden stark leukocytenemigrationsfördernd «Polysaccharide» aus gramnegativen Keimen, andere «Polysaccharide» sind Virushämagglutinationshemmer, Fermenthemmer usw.¹.

Es schien von Interesse, zu prüfen, ob diejenigen Polysaccharide, die keine spezifische Wirkung in einem bestimmten Test besitzen, nicht doch Antagonisten gegenüber wirksamen Stoffen sind. Wir hatten aus einzelnen Befunden den Eindruck gewonnen, dass in tierischen Systemen eine grundsätzlich vorhandene Wirkung durch «Inhibitoren» maskiert sein kann.

Es ergab sich, dass die stark leukocytenemigrationsfördernde Wirkung des Shearschen Polysaccharids aus *Serratia marcescens*² durch das Gottschalksche Virusrezeptor-Mucoprotein, das selbst keine Wirkung an Leukocyten zeigt, deutlich gehemmt wird. Werden steigende Konzentrationen des Shearschen Polysaccharids einer gleichen Konzentration von Mucopolysaccharid Gottschalk zugesetzt, so tritt eine mit zunehmender Menge verstärkte, aber doch über den ganzen Bereich der Wirkung deutliche Hemmung der Stimulation auf (Kurve).

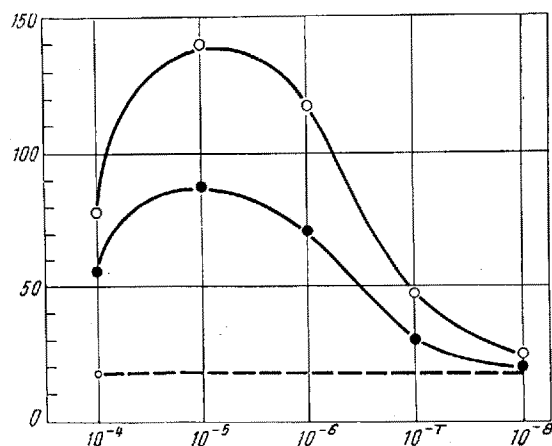


Abb. 1. Beeinflussung der Auswanderung von Leukocyten *in vitro* durch verschiedene Konzentrationen von Shears Polysaccharid und gleichbleibenden Konzentrationen von Gottschalks Mucoprotein. – Ordinate: Auswanderungsfläche in relativem Mass. Abszisse: Konzentration von Shears Polysaccharid. Obere Kurve: Beeinflussung des Auswanderungsareals durch Shears Polysaccharid. Untere Kurve: bei gleichzeitiger Zugabe von Gottschalks Mucoprotein 10⁻⁴.

Werden einer konstanten Konzentration des Shearschen Polysaccharides steigende Mengen von Gottschalk-Polysaccharid zugesetzt, so ergibt sich eine analoge antagonistische Wirksamkeit. Wir haben eine

¹ R. MEIER und B. SCHÄR, *Exper.* 10, 376 (1954). – A. GOTTSCHALK, *Int. Symp. The Dynamics of Virus and Rickettsial Infections* (Blackiston, New York 1954). – F. ABRIGNANI und V. MUTOLO, *Exper.* 10, 470 (1954).

² M. J. SHEAR und F. C. TURNER, *J. Nat. Canc. Inst. (Bethesda)* 4, 81 (1943).

Virus-Hämagglutination in Gemischen von Mucoprotein und Polysaccharid

		Konzentration des Mucoprotein (–log)								
		4,0	4,3	4,6	4,9	5,2	5,5	5,7	6,0	Ø
Konzentration des Polysaccharids (–log)	4,0	±	+	++	++	++	++	++	++	++
	5,0	0	0	±	+	++	++	++	++	++
	6,0	0	0	0	0	0	0	0	++	++
	Ø	0	0	0	0	0	0	0	++	++

0 = keine Agglutination; ± = teilweise Agglutination; + = Agglutination; ++ = rasche Agglutination.

grössere Reihe von derartigen Polysaccharid-Kombinationen untersucht; unter diesen ist die gleiche antagonistische Wirkung des Mucoproteins Gottschalk gegenüber der leukocytenwanderungsfördernden Fraktion aus Schwangernharn, die wir früher beschrieben haben, vorhanden.

Als zweiter Test wurde die Hemmung der Virus-hämagglutination benützt. Das Gottschalksche Mucopolysaccharid ist in diesem Test primärer Wirkstoff, während das Shearsche Polysaccharid hier unwirksam ist.

Technik. Die Mucoprotein- und Polysaccharidlösungen wurden in 0,9% NaCl hergestellt und in Verdünnungsreihen angelegt. Entsprechend obigem Schema wurden die Gemische mit je 0,1 cm³ der Komponenten hergestellt. Nach 1¼ h Kontakt bei Zimmertemperatur wurden die Proben regelmässig mit 0,1 cm³ Allantoisflüssigkeit von Influenza-PR₈ infiziertem Hühnerembryo (30 min bei 56° inaktiviert) beschickt. Die Endkonzentration des Indikatorvirus entsprach 4 Hämagglutinationsdosen. Hierauf wurde jede Probe mit 0,1 cm³ 1,6% Hühnererythrocyten versetzt. Ablesung der Hämagglutination nach 1 h Stehenlassen bei Zimmertemperatur.

Die Untersuchungen an Influenzavirus ergaben, dass die durch Gottschalk-Mucoprotein hervorgerufene Hemmung der Virushämagglutination durch steigende Dosen von Shear-Polysaccharid aufgehoben werden kann. Die beigefügte Tabelle zeigt eindeutig diese Beziehung der beiden Stoffe.

Es kann somit kein Zweifel bestehen, dass zwischen diesen beiden Stoffen grundsätzlich ein antagonistisches Verhältnis besteht. Wirkungsmechanismus und Einzelheiten dieser Reaktion sollen abgeklärt werden. Es scheint uns eine Mitteilung dieser Befunde angezeigt, da wohl anzunehmen ist, dass ähnliche antagonistische Beziehungen zwischen «Polysacchariden» auch bei anderen biologischen Systemen von Bedeutung sein können.

R. MEIER, B. SCHÄR und F. KRADOLFER

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, den 8. März 1955.

Summary

Shear's Polysaccharide and Gottschalk's Virus-receptor-Mucoprotein are biological antagonists. The latter inhibits the stimulation of leucocytic migration produced by the former. Inhibition of virushaemagglutination by Gottschalk's Mucoprotein is reversed by Shear's Polysaccharide.

Inhibition of Ovary Development in Worker Bees by Extraction Fluid of the Queen

In preliminary experiments¹ it was observed that inhibition of the ovary development in worker bees (*Apis mellifica* L.) was due to direct contact between these bees and a queen, either a living or a dead one. During this contact these bees show a typical behaviour: touching with their antennae and licking with their tongue the body of the queen.

After extraction in acetone or ethanol a queen loses her inhibitory effect. Moreover, every sign of attractiveness to the worker bees has disappeared: she is no longer touched and licked by the bees. After impregnation with the extraction fluid both attractiveness and inhibitory effect are present again: the queen is touched and licked by worker bees as before extraction. In control experiments extraction fluid of *worker bees* was tested in combination with extracted queens. These experiments further substantiate the hypothesis constructed previously¹ concerning the explanation of the inhibition of ovary development in worker bees by a substance present on the body of the queen. It may be mentioned that similar experiments performed with termites² point in the same direction.

The use of different extraction methods in our experiments with queens of honeybees reveals a fatty acid character of the inhibiting substance. The results of only one of the experiments are given in the table and the photographs.

Test object	Percent developed ovaries in groups of 50 worker bees
Queenless (control)	82
Queen extracted with acetone	84
Extracted queen impregnated with extraction fluid of queens	18
Extracted queen impregnated with extraction fluid of worker bees	75

Experiments were carried out in order to obtain detailed information concerning the inhibitory mechanism. Extracts of both queens and worker bees were applied not only to extracted queens but also to other objects: worker bees, drones and pieces of wood. In all these cases the *behaviour* of the worker bees pointed to discrimination between these two extracts. When using the ovary development as a testing-method, however, results were in some cases less conclusive.

¹ A. P. DE GROOT and St. VOOGD, *Exper.* 10, 384 (1954).
² M. LÜSCHER, *Z. vgl. Physiol.* 34, 123 (1952).