

ist demnach ein irreversibler Prozess. Folgendes Ergebnis weist in dieselbe Richtung: Erwärmung des in $n/10$ NaOH gelösten Proteins für 10 min auf Temperaturen zwischen $40-100^\circ$ und anschließende Dialyse (10 h; $n/10$ NaOH; 20°) ergibt einen deutlichen Abfall von 2,4 auf 0,9 S. – Wird die Proteinsubstanz direkt in NaOH der gewünschten Stärke gelöst und nach NaCl-Zugabe ($I' = 0,15$) sofort zentrifugiert, so erhält man in $n/50$ bis $n/7$ NaOH Werte um 2,8 S; das heisst, dieser Sedimentationskoeffizient ist höher, als für Peptidketten mit $M \approx 16000-18000$ erwartet werden muss. – Man kann aus den genannten Messungen in verdünnter NaOH nicht eindeutig auf ein bestimmtes M-Gewicht schliessen, da unter diesen Bedingungen mit dem Ablauf sekundärer Prozesse zu rechnen ist.

3. 60 Volumenteile bis kurz über dem Erstarrungspunkt gekühlter 99prozentiger *Essigsäure* wurden mit 30 Teilen Viruslösung (in H_2O) bei 4° gemischt⁸ und 15 min unter leichtem Schütteln stehen gelassen, die ausgefallene RNS abzentrifugiert und zu dem Überstand 10 Volumenteile 2,5 m NaCl zugesetzt. Auf $c = 0$ extrapoliert, betragen s_{20} , $w = 1,25$ S und D_{20} , $w = 7,9 \cdot 10^{-7}$ cm²/sec, woraus sich $M = 17800$ errechnet.

4. TMV wurde 24 h bei 4° gegen $m/10$ Glykokollpuffer pH 10,5 dialysiert, das Protein zweimal mit $(NH_4)_2SO_4$ gefällt und gegen $m/50$ Veronalpuffer pH 8,0 dialysiert. UV-Absorptionsmessungen in Phosphatpuffer pH 7 gaben über die Reinheit des Proteinpräparates Aufschluss. Um die bei der Denaturierung durch die folgende *Pyridin*-Behandlung freiwerdende SH-Gruppe des Proteins zu blockieren und dadurch eventuelle sekundäre SH-Reaktionen zu verhindern, wurde p-Chloromercuribenzoat (pCMB) in einer Endkonzentration von $m/1000$ zugegeben. 70 Volumenteile der Proteinlösung (in Veronalpuffer + pCMB) wurden mit 30 Volumenteilen Pyridin gemischt und vor der Zentrifugierung mit 10 Teilen $m/1$ NaCl versetzt. Als Ergebnis wurde s_{20} , $w = 1,35$ S und D_{20} , $w = 7,2 \cdot 10^{-7}$ cm²/sec, beide auf $c = 0$ extrapoliert, sowie $M = 17300$ erhalten. – Zu ähnlichen Resultaten kommt man, wenn Virus tropfenweise zu der pCMB enthaltenden Pyridin-Wasserlösung unter Schütteln hinzugegeben und anschliessend NaCl ($I' = 0,1$) zugesetzt wird. Die Virusstäbchen zerfallen in der Pyridinlösung unter Denaturierung sofort in die Untereinheiten.

Fraülein INGRID HINDENNACH und KARIN SANDELIN danke ich für die wertvolle Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche.

H. G. WITTMANN

Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, 22. Dezember 1958.

Summary

Highly purified tobacco mosaic virus was split by different methods, the ribonucleic acid removed and the size of the protein sub-unit determined by sedimentation and diffusion. The value for the molecular weight of a polypeptide chain of the tobacco mosaic virus was calculated to be 17–18000.

⁸ H. FRAENKEL-CONRAT, *Virol.* 4, 1 (1957).

Über die Entstehung von Orientierungen in Nylon 6 durch Kontakt mit der Spaltfläche von KCl

An dem Beispiel der orientierten Aufwachsung von Polyäthylen auf NaCl haben J. WILLEMS und I. WILLEMS¹ erstmalig gezeigt, dass auch hochmolekulare organische Stoffe orientiert zu verwachsen vermögen. Diese Verwachsung wurde auf lichtmikroskopischem Wege gefunden. Das Verwachsungsgesetz und die kristallographische Natur der orientiert aufgewachsenen Teilchen des Polyäthylens wurden von FISCHER² mit Hilfe des Elektronenmikroskops aufgeklärt.

Bei weiteren systematischen Aufwachsungsversuchen mit organischen hochmolekularen Stoffen der verschiedensten Art unter Verwendung mannigfaltiger Trägerkristalle wurden keine mit dem Lichtmikroskop erkennbaren orientierten Teilchen der hochmolekularen Stoffe gefunden. Es wurde deshalb eine Methode ausgearbeitet, die Orientierungserscheinungen an hochmolekularen Stoffen an Grenzflächen auf lichtmikroskopischem Wege auch dann erkennen lässt, wenn die orientierten Teilchen an sich unter der Sichtbarkeitsgrenze des Lichtmikroskops liegen. Diese Methode besteht darin, dass der hochmolekulare Stoff als dünner Film auf die Trägerfläche in Lösung oder in der Schmelze aufgebracht und nach dem Ablösen des Trägers durch Aufwachsungsversuche mit geeigneten Gastsubstanzen auf der Filmfläche des hochmolekularen Stoffes festgestellt wird, ob eine Orientierung und gegebenenfalls welcher Art eingetreten ist. Nähere Einzelheiten über dieses «Abdruckverfahren», bei dem die Trägerfläche sozusagen als Matrice wirkt, werden an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Nach diesem Abdruckverfahren gelang es, durch Aufbringen einer Lösung von Nylon 6 (Polyamid der ϵ -Aminocapronsäure) in Kresol auf (100) von KCl bei $195^\circ C$, einen Film zu erhalten, auf dessen Oberfläche nach dem Ablösen des KCl-Kristalls mit Wasser die nadelförmigen Kriställchen von aufgedampftem Pentachlorphenol sich in 4 Stellungen ausgezeichnet orientieren. Diese 4 Stellungen sind um 45° gegeneinander gedreht.

Elektronenmikroskopisch wird die weitere Aufklärung dieser Orientierung fortgeführt.

J. WILLEMS

Krefeld, Tiergartenstrasse 21, 1. Oktober 1958.

Summary

Oriented overgrowth of pentachlorophenol was obtained on a thin film of Nylon 6 produced in contact with (100) of KCl.

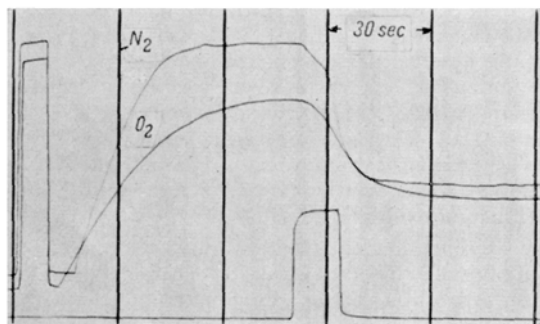
¹ J. WILLEMS und I. WILLEMS, *Exper.* 13, 465 (1957).

² E. W. FISCHER, *Faraday Soc. Discuss.* 1958 (im Druck).

A System in the Mammalian Skin Sensitive to X Irradiation and Insensitive to the Oxygen Effect

Molecular oxygen increases the effects of X or γ -irradiation. It has been questioned whether or not the substances which protect living organisms against X-irradiation act by reducing the oxygen pressure in the tissues,

BRINKMAN and LAMBERTS¹ and LAMBERTS² have described a phenomenon abolished by the radioprotector cystamine discovered by BACQ and HERVE³. We have observed that it is not sensitive to the presence of O₂.



Pressure records. One injection needle is supplied with normally oxygenated saline, the other with oxygen-depleted solution. In each case, calibration of the apparatus to 100 mm Hg; then the pressure is slowly built up until a plateau is reached. The lower curve indicates the time of X-irradiation (175 r/sec). Both pressures fall in the same manner.

Thanks to the help of Dr. LAMBERTS, we have built in Liège the apparatus used by the Dutch scientists. It consists of two very fine injection needles (no. 20) inserted in the skin of a young adult mammal (rat, man) in the deep layer of the dermis where the mucopolysaccharide fibres are numerous. One builds a pressure of about 100 mm Hg by slow constant injection of 0.9% NaCl solution; the pressure is limited by a system of valves and registered on photographic paper by means of electronic tubes which transform pressure in potential changes. The skin is irradiated locally just above the tip of the needle with a soft X-ray beam (30 kV, 15 mA, 175 r/sec); after a latency of only 1 sec, the pressure falls, presumably because hyaluronic acid depolymerizes. This effect is observed in a living or a recently dead rat. We have confirmed BRINKMAN and LAMBERTS' observations. In order to be sure that oxygen is not involved, we have worked with rats anaesthetized by Nembutal, killed in a plastic box where a slight pressure of pure nitrogen was maintained. The oxygen dissolved in the injected solution was carefully removed by a vacuum pump and 3 or 4 washings with pure nitrogen. The effect of X-irradiation in this condition of strict lack of oxygen is the same as that seen when no precautions are taken to exclude oxygen (Fig.). We have seen that the radioprotector tryptamine (HCl, 0.01 M) inhibits the fall of pressure just as cystamine does.

Thus the oxygen effect in this case cannot explain the action of cystamine or tryptamine which is better interpreted by the theory of trapping of free radicals as proposed by ALEXANDER, BACQ *et al.*⁴.

Z. M. BACQ, P. CICCARONE*, and J. RENSON

Laboratories of General Pathology and of Civil Security,
University of Liège (Belgium), November 28, 1958.

Résumé

La chute de pression sous l'influence des rayons X dans une poche de solution saline injectée dans la peau du rat (phénomène décrit par BRINKMAN et LAMBERTS) se produit aussi en l'absence d'oxygène. L'action de certains radioprotecteurs, mise en évidence par cette technique, est donc également indépendante de l'oxygène.

Occurrence of a Pigment Layer in *Gastrothylax crumenifer* (Creplin, 1847)

Pigments in helminths have been known for a long time but during the last decade or two some of these have been shown to resemble haemoglobin (WHARTON¹, STEPHENSON², VAN GREMBERGEN³, DAVENPORT⁴, and ROGERS⁵). The present paper gives an account of a pigmented layer in an amphistome, *Gastrothylax crumenifer* (CREPLIN, 1847) commonly parasitizing the rumen of cattle.

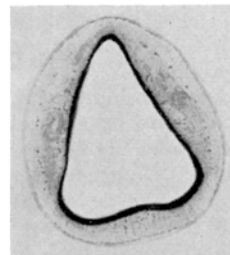


Fig. 1.—Photograph of a thick transverse section of *Gastrothylax crumenifer* to show the pigment layer lining the cavity of the ventral pouch.

The body of this amphistome appears red or pink in fresh condition when removed from the rumen, but in a transverse section of this amphistome (Fig. 1) the colour can be traced to its ventral pouch which is a large cavity showing a red coloured layer. This pigmented layer lies just over the layer of the oblique muscles next to the general parenchyma and appears to be slightly vacuolated. As the pigmented layer extends along the length of the ventral pouch, the entire body of the amphistome appears red. The pigmented layer can be peeled off from the cut surface in an amphistome longitudinally bisected through its ventral pouch (Fig. 2) and parts of the body of the amphistome without this layer appear almost greyish-white. The pigment seems to be concentrated in this layer, there being little dispersal of the pigment elsewhere.

Extraction of this pigment from amphistomes was done by a simple method. Live worms along with some contents of the rumen maintained at about 37°C in a thermos flask were brought to the laboratory from the slaughter house. The worms were thereafter thoroughly rinsed in distilled water and then cut longitudinally into two halves across the cavity of the ventral pouch. The cut worms were

¹ G. W. WHARTON, *J. Parasit.* 27, 81 (1941).

² W. STEPHENSON, *Parasitology* 38, 128 (1947).

³ G. VAN GREMBERGEN, *Enzymologia* 13, 241 (1949).

⁴ H. E. DAVENPORT, *Proc. R. Soc. London B* 136, 255 (1949). — R. F. H. FREEMAN and J. LLEWELLYN, *J. Mar. Biol. Ass.* 37, 435 (1958).

⁵ W. P. ROGERS, *Australian J. sci. Res. B* 2, 287 (1950). — D. KEILIN, *Proc. R. Soc. London B* 98, 312 (1925).

¹ R. BRINKMAN and H. B. LAMBERTS, *Nature* 181, 774 (1958).

² H. B. LAMBERTS, *Chemische bescherming tegen beschadigende bestraling* (Thesis, Groningen 1958), p. 124.

³ Z. M. BACQ and A. HERVE, *Bull. Acad. Roy. Méd. Belg.* [VI^e série] 17, 13 (1952).

⁴ P. ALEXANDER, Z. M. BACQ *et al.*, *Radiation Res.* 2, 392 (1955).

* Fellow of the Belgo-Italian Commission for Cultural Relations.