

verdünnung schwankten. Die mit täglichen Hautextraktinjektionen behandelten Tiere erhielten durchschnittlich 8 Injektionen bis zum Positivwerden der serologischen Reaktion.

Anamnestiche Reaktion. Bei 8 transplantierten Kaninchen haben wir nach Negativwerden der Reaktion eine zweite Hauttransplantation durchgeführt. Während bei diesen Tieren nach der ersten Transplantation die durchschnittliche Dauer bis zum Auftreten der Antikörper $6\frac{1}{2}$ Tage betrug, dauerte es nach der zweiten Transplantation durchschnittlich nur $2\frac{1}{2}$ Tage, bis die serologische Reaktion positiv wurde. Bei 2 Tieren konnten schon am Tage nach der zweiten Transplantation Antikörper nachgewiesen werden.

Erworbener, nicht natürlicher, individualspezifischer Antikörper. Die Seren von 6 nichtsensibilisierten Kaninchen gaben mit Hautantigenlösungen von 15 verschiedenen Kaninchen niemals eine Trübungsreaktion. Mit grösster Wahrscheinlichkeit existieren also keine natürlichen Antikörper vom Typ der mit unserer Methode nachgewiesenen Antikörper. Ferner konnten wir im Serum von 10 sensibilisierten Kaninchen, die eine positive Reaktion mit den Gewebsantigenlösungen des sensibilisierenden Kaninchens zeigten, nie Antikörper gegen Gewebe von 10 anderen nicht zur Sensibilisierung verwendeten Kaninchen nachweisen. Aus diesen Versuchen geht hervor, dass der nachgewiesene Antikörper wahrscheinlich individualspezifisch ist. Es ist allerdings nicht mit Sicherheit auszuschliessen, ob nicht doch Fälle von gekreuzter Sensibilisierung vorkommen. Vielleicht besteht eine solche Vielfalt von Antigenen, dass wir bei unseren Versuchen zufällig nie 2 Kaninchen mit gemeinsamen Antigenen angetroffen haben.

Individualspezifisches, in sämtlichen Organen eines Individuums vorkommendes Antigen. Die nach Injektion von Gewebsbrei oder Gewebsextrakt, bzw. nach Hauttransplantation auftretenden Antikörper reagieren nicht nur mit demjenigen Gewebe, mit welchem sensibilisiert wurde, sondern mit sämtlichen übrigen Organen des Spendertieres. In unseren Versuchen erhielten wir positive serologische Reaktionen mit folgenden Organextrakten: Haut, Niere, Leber, Herz, Lunge, Darm, Hoden, Uterus, Pankreas, Muskel. Der von uns nachgewiesene Antikörper scheint mit einem individualspezifischen Antigen, das in sämtlichen Organen eines Individuums vorkommt, in Reaktion zu treten.

Absättigung. Nach Absättigung des Serums mit Gewebsextrakt werden die Trübungsreaktionen negativ. Der Antikörper kann mit jedem Organextrakt abgesättigt werden, sei es mit dem sensibilisierenden Organ oder auch mit einem anderen Organ desselben Spendertieres. Nach Absättigung fällt die Reaktion nicht nur mit dem zur Absättigung verwendeten Organextrakt, sondern auch mit allen anderen Organextrakten des betreffenden Spendertieres negativ aus.

Eigenschaften von Antikörper und Antigen. Der erwähnte Antikörper ist thermolabil. Bei Erhitzen des Serums auf 56°C wird er nach 10–15 min zerstört. Bei 37°C ist der Antikörper nach 1–5 h, bei Zimmertemperatur nach 12–48 h nicht mehr nachweisbar. Die Dialyse mittels Colloidmembran gegen Phosphatpuffer, *Aqua destillata* oder Normalserum während 8–24 h bei $\pm 4^{\circ}\text{C}$ zeigte, dass der Antikörper nicht dialysabel ist.

Das Antigen der Gewebsextrakte, mit dem der Antikörper in Reaktion tritt, wird bei Erhitzen auf 56°C nach 30–90 min zerstört. Bei 37°C ist das Antigen nach 10–24 h, bei Zimmertemperatur nach 1–2 Tagen nicht

mehr nachweisbar. Häufiges Einfrieren auf -30°C und Auftauen zerstört sowohl Antigen wie Antikörper.

W. BOLLAG

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 21. November 1955.

Summary

Injection of homologous tissue or tissue extracts and homologous transplantation of skin in rabbits provoke the production of antibodies. By means of a new nephelometric method, acquired antibodies against homologous tissue circulating in the serum were found. This tissue-antibody seems to be an individual-specific one, reacting with all organs of the donor. The antibody is thermolabile and not dialysable.

Increased Formation of Asparagine in 'Carica-curl' Virus Infected Leaves

A decrease in the content of insoluble leaf protein and a simultaneous increase in asparagine formation due to virus infection has been noted only in few cases. Recently authors have noticed asparagine formation in T.M.V. and Tobacco leaf-curl infected tobacco leaves¹, "yellow vein mosaic" infected leaves of *Abelmoschus esculentus*² and in mosaic infected leaves of *Carica papaya*³. The present study reveals an increased formation of asparagine and a ninhydrin reacting substance having Rf value 0.67 corresponding to β -alanine + α -aminobutyric acid due to 'Carica-curl' virus infection in *Carica papaya* leaves.

The healthy and 'Carica-curl' infected leaves were collected at about 9 a.m., from the fourth and fifth nodes, from the two shoots of the same plant, one of which was severely infected and the other healthy. The free amino acids were extracted by freezing the tissue and extracting with 70% alcohol in cold whereas the insoluble leaf protein was extracted by hydrolyzing the residue with 6N HCl and autoclaved at 20 lbs. pressure for 15 min. The amino acids were assayed using RANJAN's *et al.*⁴ horizontal migration multiple-sector technique of paper chromatography.

The free amino acids of both the leaf blade and the petiole of diseased and healthy leaves do not show any qualitative change, but the content of asparagine shows a remarkable increase in case of the 'carica-curl' infected leaves. The band corresponding to β -alanine + α -aminobutyric acid also shows an increase in the curl infected leaves as compared to healthy ones. The following free amino acids were identified: leucines + phenylalanine (Rf 0.87; I), valine + methionine (Rf 0.74; II), β -alanine + α -aminobutyric acid (Rf 0.67; III—identified by its position *cf.* RADHA KRISHNAN and VAIDYANATHAN⁵), alanine (Rf 0.57, IV), glutamic acid (Rf 0.50; V), aspartic acid (Rf 0.44, VI) and amide asparagine (Rf 0.36, VII). Band nos. I, II, and V were present in such low quantities as not to be detected in the photographs. The absence of threonine and glycine + serine, which give common bands with glutamic acid and aspartic acid respectively,

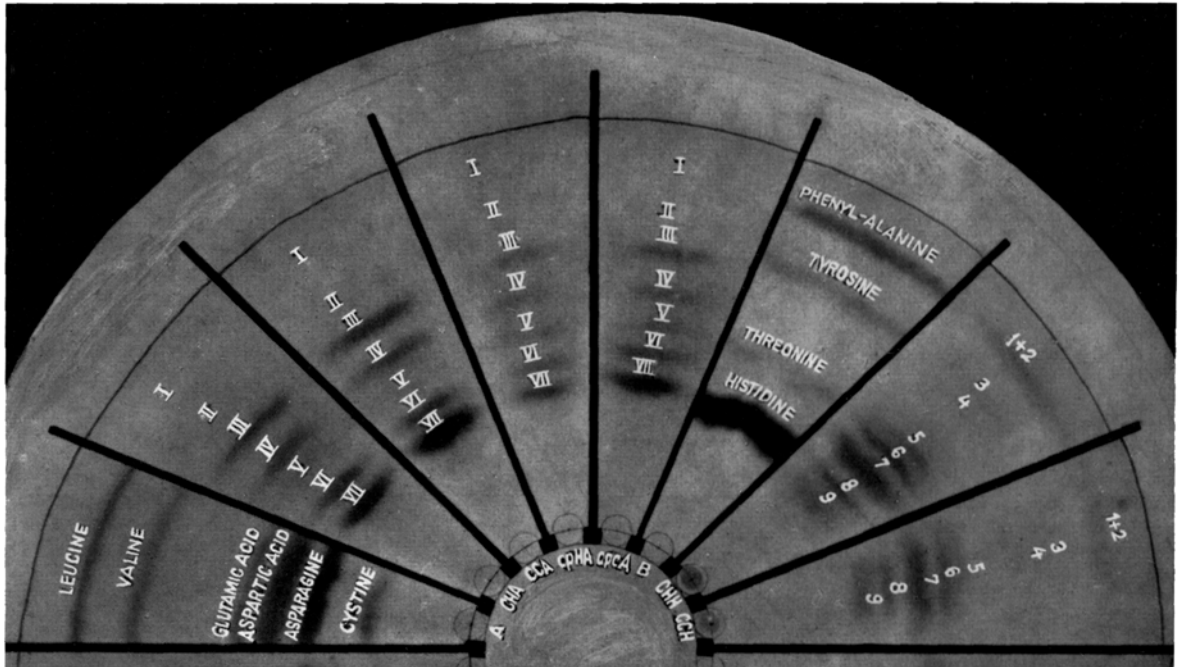
¹ M. M. LALORAYA and GOVINDJEE, *Nature* 175, 907 (1955).

² GOVINDJEE, M. M. LALORAYA, and T. RAJARAO (unpublished).

³ M. M. LALORAYA, GOVINDJEE, R. VARMA, and T. RAJARAO (unpublished).

⁴ S. RANJAN, GOVINDJEE, and M. M. LALORAYA, *Proc. Nat. Inst. Sci. India*, [B] 21, No. 1, 42 (1955).

⁵ A. N. RADHA KRISHNAN and C. S. VAIDYANATHAN, *Naturwissenschaften* 41, H. 18, 432 (1954).



Chromatogram showing amino acids of healthy and 'Carica-curl' infected leaves of *Carica papaya* (Solvent: But. - Acetic Acid - Water)
4 : 1 : 5

A and D – Reference solutions; CHA – Alcoholic extract of healthy leaves; CCA – Alcoholic extract of 'Carica-curl' infected leaves; CpHA – Alcoholic extract of healthy petiole; CpCA – Alcoholic extract of 'Carica curl' infected petiole; healthy leaves; CCH – Acid hydrolysate of 'Carica-curl' infected leaves.

was established by running the chromatogram with McFARREN's technique⁶.

The acid hydrolysate of both the healthy and 'carica-curl' infected leaves show the presence of the following common amino acids: leucines + phenylalanine (Rf 0.87; 1 and 2), valine + methionine (Rf 0.75; 3), tyrosine (Rf 0.73; 4), alanine (Rf 0.57; 5), glutamic acid + threonine (Rf 0.50; 6), glycine + aspartic acid (Rf 0.44; 7), arginine (Rf 0.38; 8) and histidine + lysine (Rf 0.32; 9). A decrease in the intensity of the bands is observed in the hydrolysate of 'carica-curl' infected leaves as compared to healthy leaves.

Such an increased formation of asparagine and β -alanine + α -aminobutyric acid may be either due to the breakdown of the insoluble leaf protein or through some other unknown metabolic process, induced by virus infection.

We are grateful to Prof. SHRI RANJAN for his valuable guidance and interest in the work. We wish to thank SHRI K. S. BILGRAMI for his valuable help.

M. M. LALORAYA, GOVINDJEE,
RAJNI VARMA, and T. RAJARAO

Department of Botany, University of Allahabad, India,
October 19, 1955.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der Papierchromatographie wurden lösliche und unlösliche Proteine in gesunden und durch «Carica-Curl»-Virus erkrankten Blättern von Carica-Papaya bestimmt. In kranken Blättern nehmen die unlöslichen Proteine ab, der Gehalt an Asparagin, β -Alanin + α -Aminobuttersäure zu, was wohl auf eine Änderung des Eiweißstoffwechsels der infizierten Blätter unter dem Einfluss des Virus zurückgeführt werden darf.

⁶ EARL F. MCFARREN, Anal. Chem. 23, 168 (1951).

Sur l'interaction entre aldéhydes ou réductones et acides aminés ou protéines

IV. Dosages des groupements basiques des protéines traitées à l'acétaldéhyde ou au glucose

Les propriétés physicochimiques des protéines subissant la réaction de Maillard (brunissement non-enzymatique des protéines en présence de sucres réducteurs), changent d'une façon progressive au cours de la réaction. Leur poids moléculaire augmente, la solubilité diminue, la polydispersion du produit s'accroît, ce qui peut être mis en évidence par l'électrophorèse et ultracentrifugation¹. En dehors de son importance bromatologique, cette réaction mérite l'intérêt des biochimistes, car il n'est pas impossible que la combinaison *in vivo* du glucose (ou d'autres substances de nature aldéhydique) et des groupements basiques des protéines sériques et tissulaires joue un rôle physiologique. L'étude d'un tel problème nécessite avant tout une méthode permettant de suivre les modifications des protéines. La modification primaire des protéines étant le blocage de ses groupements basiques, nous avons essayé d'appliquer la méthode de FRAENKEL-CONRAT et COOPER² au dosage des groupements basiques des protéines avant et après traitement à l'acétaldéhyde ou au glucose³.

Le Tableau suivant donne les résultats de ces dosages.

¹ A. MOHAMMED, H. FRAENKEL-CONRAT et H. S. OLCOTT, Arch. Biochem. 24, 157 (1949). – L. ROBERT et F. S. PENARANDA, J. Polymer. Sci. 12, 337 (1954). – M. POLONOVSKI et L. ROBERT, Exper. Med. Surg. 12, 68 (1954).

² H. FRAENKEL-CONRAT et M. COOPER, J. biol. Chem. 154, 239 (1944).

³ Cette méthode consiste en la mesure spectrophotométrique de la combinaison entre les protéines et un colorant acide (orange G) à pH 2,0, la quantité de colorant fixé étant fonction du nombre des groupements basiques.