

surface tension and the strips will sink. It is advisable to carry out this procedure only in a well-ventilated dark room.

Autoradiographs with film stripped by the usual method in a humidified dark room and by the ethanol method described above were compared. Duplicate slides were developed after increasing intervals of exposure. Grains appeared over the radioactive sites at approximately parallel rates, and in fact the two types of preparations were indistinguishable.

This method has yielded highly satisfactory results in qualitative studies on biological material. No grain coating has been attempted. It is simple, rapid and requires no special equipment. Preparations of good quality are readily obtainable in areas where atmospheric conditions are unfavorable.

D. MAZIA<sup>1</sup> and NANCY L. R. BUCHER<sup>2,3</sup>

*Department of Zoology, University of California, Berkeley, and John Collins Warren Laboratories of the Huntington Memorial Hospital of Harvard University, at the Massachusetts General Hospital, Boston (Massachusetts), January 25, 1960.*

#### Zusammenfassung

Die Vorbereitung des Films unter einer Alkohol-Wasser-Lösung wird empfohlen, um die störende Belichtung des autoradiographischen «stripping film» durch elektrostatische Entladungen in einer trockenen Atmosphäre zu vermeiden.

<sup>1</sup> Supported by a grant from the National Institutes of Health.

<sup>2</sup> Present address: Massachusetts General Hospital, Boston.

<sup>3</sup> Supported by a grant from the American Cancer Society. This is publication No. 972 of the Cancer Commission of Harvard University.

#### PRO EXPERIMENTIS

#### Une combinaison chimique de la fertilisine

L'un de nous a montré<sup>1</sup> que lorsqu'on met en contact le sérum d'un lapin avec de l'eau de mer ovulaire d'oursin ou une solution de fertilisine d'extraction trichloracétique<sup>2</sup> en eau de mer, il se forme un trouble pouvant interférer avec d'éventuelles lectures de réactions immunologiques. Or, il a été démontré<sup>3,4</sup> que la fertilisine possède des propriétés proches de celles de l'héparine: d'une part c'est un polyside estérifié par des groupements  $\text{SO}_4^-$ , d'autre part c'est une antithrombine.

L'un de nous a montré<sup>5,6</sup> qu'en présence de certains cations divalents, dont  $\text{Ca}^{++}$ , l'héparine et les héparinoïdes de synthèse précipitent sélectivement les  $\beta$ -lipoprotéines sériques. Il nous a paru intéressant de rechercher si la fertilisine précipite également les  $\beta$ -lipoprotéines. Effectivement nous avons constaté qu'une solution de fertilisine de *Psammechinus miliaris* en présence de 0,1 M  $\text{CaCl}_2$  floccule les  $\beta$ -lipoprotéines du sérum de l'homme. La combinaison est mise en évidence par coloration des lipides avec le noir Soudan dans le précipité redissous en présence de citrate et après électrophorèse sur papier.

Cette réaction de la fertilisine nous paraît avoir un certain nombre d'incidences physiologiques:

1° Il est possible que la combinaison fertilisine- $\text{Ca}^{++}$ - $\beta$ -lipoprotéines joue un rôle important au cours de l'agglutination des spermatozoïdes spécifiques notamment par la fertilisine. En effet la présence d'une gaine lipidique dans la tête des spermatozoïdes d'oursins<sup>7,8</sup> rend très vraisemblable une telle hypothèse.

Notons toutefois que l'héparine n'agglutine pas les spermatozoïdes d'oursins en eau de mer; il s'agit probablement d'une question de poids moléculaire, celui de l'héparine étant trop faible dans les conditions de force ionique qui sont celles de l'eau de mer. En effet l'héparine, contrairement à certains héparinoïdes de synthèse, ne précipite les  $\beta$ -lipoprotéines que dans des conditions de force ionique faible<sup>5</sup>.

La combinaison fertilisine-protéines basiques spermatozoïdes-phosphatides spermatozoïdes envisagée par l'un de nous<sup>9</sup> interviendrait dans les processus d'agglutination irréversibles décrits en<sup>9</sup>.

2° Il nous paraît possible de généraliser la portée de la combinaison polysides sulfuriques- $\text{Ca}^{++}$ - $\beta$ -lipoprotéines. HEILBRUNN et WILSON<sup>10,11</sup> ont montré que l'héparine inhibe la formation du fuseau achromatique; d'après JAHN<sup>12</sup> et KOPAC<sup>13</sup>, cette inhibition est en faveur de l'hypothèse soulevée par l'un de nous<sup>14</sup> selon laquelle le fuseau achromatique serait constitué par une combinaison entre des protéines basiques nucléaires et des protéines à point isoélectrique acide cytoplasmiques, l'héparine entrant en compétition avec les protéines acides cytoplasmiques. La combinaison des  $\beta$ -lipoprotéines avec les polysides sulfuriques nous paraît désormais orienter utilement dans une nouvelle voie les recherches sur la constitution du fuseau achromatique.

Un dosage de la fertilisine fondé sur la combinaison chimique que nous venons de mettre en évidence est en cours de réalisation.

B. RYBAK et M. BURSTEIN

*Département de Zoophysologie, Faculté des Sciences, Caen et Centre Nationale de Transfusion Sanguine, Paris, le 23 décembre 1959.*

#### Summary

The fertilizin of sea-urchins combines with  $\beta$ -lipoproteins of mammals sera in the presence of calcium ions. It is suggested that a combination of this type occurs *in vivo* during the sperm-fertilizin interaction.

<sup>1</sup> B. RYBAK, Bull. Soc. Chim. biol., Paris 31, 464 (1949).

<sup>2</sup> B. RYBAK, C. R. Acad. Sci., Paris 225, 701 (1947).

<sup>3</sup> E. VASSEUR, Acta chim. scand. 2, 900 (1948).

<sup>4</sup> J. IMMERS et E. VASSEUR, Paris 5, 124 (1949).

<sup>5</sup> M. BURSTEIN, C. R. Acad. Sci., Exper. 243, 527 (1956).

<sup>6</sup> M. BURSTEIN et J. SAMAILLE, C. R. Acad. Sci., Paris 241, 664 (1955).

<sup>7</sup> G. T. POPA, Biol. Bull. 52, 238 (1927).

<sup>8</sup> O. TUZET, C. R. Soc. Biol., Paris 109, 696 (1932).

<sup>9</sup> B. RYBAK, Bull. Biol. France et Belge, Suppl. 41 (1957).

<sup>10</sup> L. V. HEILBRUNN et W. L. WILSON, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N. Y. 70, 179 (1949).

<sup>11</sup> L. V. HEILBRUNN et W. L. WILSON, Biol. Bull. 97, 242 (1949).

<sup>12</sup> U. JAHN, Z. mikr. anat. Forschung 58, 37 (1952).

<sup>13</sup> M. KOPAC, Ann. Rev. Physiol. 12, 7 (1950).

<sup>14</sup> B. RYBAK, Bull. Soc. Chim. biol., Paris 32, 703 (1950).

#### NOTA

*Editor's Note:* MARGARET H. SHERLOCK, N. SPERBER, and J. TOPLISS: 3-Haloalkyl-Dihydrobenzothiadiazine Dioxides as Potent Diuretic Agents. A Brief Report on the same subject by DE STEVENS *et al.* has been received February, 9 and appeared in Exper. 16, no. 3, p. 113 (1960). For various technical reasons publication on the present report — which definitely has priority — has unfortunately been delayed.