

sehr wahrscheinlich, daß sich das Urdarmdach irgendwie bei der Riechgrubeninduktion beteiligt; SIGGIA¹ hat schon auf eine eventuelle Rolle des Urdarmdaches bei der Bildung der Riechgruben hingewiesen, und da bei der Umdrehung des Medullarplattenabschnittes mit Neuralwulst die in der Rautenhirngegend gebildeten überzähligen Riechgruben in größerer Anzahl auftreten, wenn man das Urdarmdach mitdreht, so ergibt sich, daß das Urdarmdach zum mindesten einen fördernden Einfluß auf die Bildung der Riechgrube ausübt.

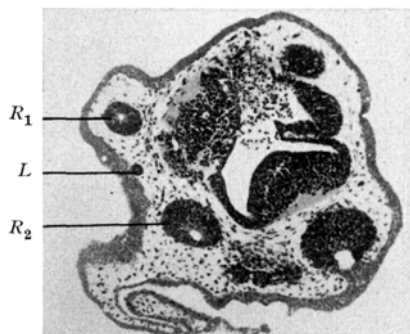


Abb. 6. Schnitt durch die vordere Kopfregion eines nach Abb. 5 operierten Keims. Die linke Hälfte (rechts in der Abb.) ist normal; in der rechten ist ein Rautenhirnabschnitt, zwei Riechgruben (R_1 , R_2) und ein Lentoid (L) ersichtlich (65 \times).

Zusammenfassend können wir also sagen, daß eine spezifische Induktionswirkung von dem Vorderhirn bei der Nasengrubenbildung nicht klar nachweisbar ist, vielmehr sprechen die vorgeführten Tatsachen zugunsten einer hervorragenden Rolle des Kopfganglienleistematerials, insbesondere desjenigen Anteils, der im lateralen Querwulst gelegen ist. Wahrscheinlich beteiligt sich auch das Urdarmdach bei der Induktion der Nasengrube im Sinne einer fördernden Wirkung.

L. RAUNICH

Institut für vergleichende Anatomie der Universität Bologna, den 1. Februar 1950.

Riassunto

Dai risultati degli esperimenti eseguiti non risulta chiaramente una azione inducente specifica del prosencefalo per l'organo olfattorio, bensì è molto probabile che in questo processo induttivo spetti una importanza fondamentale al materiale della cresta neurale, in particolare di quella frazione che è situata nel cerchio neurale laterale. Molto probabilmente anche il tetto dell'archenteron favorisce la formazione dell'organo olfattorio, partecipando alla sua induzione.

¹ SIGGIA, I. C.

Elektronenmikroskopische Untersuchung der Markscheide und des Achsenzylinders im internodalen Abschnitt der Nervenfasern

Äußerst dünne (0,2–0,1 μ) Serien-Gefrierschnitte von osmium- und formalinfixierten Ischiadicusnerven des Frosches und der Ratte wurden mit einer Modifikation des Thermal-Expansions-Schneideverfahrens hergestellt und mit dem Elektronenmikroskop untersucht.

Bei der zuerst von NEWMAN, BORYSKO und SWERDLOW¹ angegebenen Methode wird das Präparat beim Schneiden mit einem gewöhnlichen, leerlaufenden Mikrotom (Spencer rotary microtome, model No. 820) um die erforderlichen Bruchteile eines μ durch kontinuierliche Ausdehnung einer tiefgekühlten Kammer bei langsamer Anpassung an die Zimmertemperatur vorgeschoben; dabei müssen die Objekte in Kunstharz eingebettet sein. In der verwendeten Modifikation² dagegen wird die Tiefkühlung mit Kohlensäure Schnee gleichzeitig benutzt, um das frische oder fixierte Präparat direkt einzufrieren und entsprechend dünne Schnitte herzustellen, ohne daß die Objekte vorher mit Alkohol, Äther, Kollodium, Kunstharze usw. behandelt werden müssen. Durch einen Motorantrieb und durch Auffangen der Schnitte auf der Flüssigkeitsoberfläche eines am Messer angesetzten Behälters lassen sich mühelos Serien-Gefrierschnitte von 0,3–0,1 μ anfertigen, die kaum deformiert sind. Sie lassen sich mit den entsprechenden Schnitten von eingebettetem Material vergleichen. Bei diesem Verfahren wird das Objekt erst in den letzten Phasen der Präparation eingetrocknet, wenn der feuchte, dünne Schnitt bereits auf der Kollodiummembran montiert ist und durch sie gestützt wird. Die Präparate können dann sofort mit Platin/Palladium schräg bedampft oder unmittelbar untersucht werden, ohne die Einbettungsmasse zuerst weglösen zu müssen.

Weiterhin sind Schnitte von *eingebetteten* Nerven (Kollodium-, Paraffin- und Gelatineeinbettung) und Oberflächenpräparate von Einzelfasern, die nach dem Replicaabzugsverfahren³ hergestellt wurden, im Rahmen einer vor kurzem abgeschlossenen umfangreichen Studie⁴ untersucht worden. Die wichtigsten Befunde sollen im Nachstehenden beschrieben werden. Im Internodalabschnitt der Ischiadicusfasern von Frosch und Ratte wurden folgende Strukturen beobachtet:

1. Die Nervenfasern sind von einer äußeren Hülle umgeben, die aus einer 200 Å dicken, kompakt granulären Membran besteht, welche dem Neurilemma entspricht. Auf dieser Membran liegen longitudinal angeordnete Bündel von typischen Kollagenfasern (mit einer axialen Periodizität von 620–660 Å) und weitmaschige Netze einer besonderen glatten, gewundenen und steif aussehenden Faserart, die nicht näher identifiziert wurde, sie kann vielleicht mit den elastischen Elementen der Henleschen Scheide in Beziehung gebracht werden. Die tubulär aussehenden Fibrillen, die von DE ROBERTIS und SCHMITT⁵ als «Neurotubuli» beschrieben und in den Achsenzylinder verlegt wurden, stellen in Wirklichkeit gewöhnliche Kollagenfasern dieser äußeren Hülle dar, die von einer diffusen Substanz umgeben sind und deshalb im elektronenmikroskopischen Bild röhrenförmig aussehen.

2. In 0,5 μ dicken Querschnitten erscheint die Markscheide aus vielen konzentrischen Ringen aufgebaut, von denen dünne bandförmige Lamellen abblättern. Diese Lamellen lassen sich einzeln oder aufgestapelt in großer Zahl aus fragmentierten mit Osmium oder mit Formalin fixierten dicken Gefrierschnitten oder ganzen Nerven isolieren (Abb. 1). Die Einzellamelle ist ungefähr 50 Å dick und weist eine granuläre Oberflächenstruktur auf, die erst nach schräger Metallbedampfung sichtbar wird. Ihre Dicke schwankt zwischen 50–100 Å. Die osmiumfixierten Lamellen mit gleichmäßig verteilter Oberflächenstruktur haben eine durchschnittliche Dicke von 80 Å. Myelintropfen, die beim Schneiden oder Fragmentieren von frischen Nerven massenhaft auftreten,

¹ S. B. NEWMAN, E. BORYSKO und M. SWERDLOW, Science 110, 66 (1949).

² H. FERNÁNDEZ-MORÁN, Exp. Cell Res. 1, 143 (1950).

³ H. FERNÁNDEZ-MORÁN, Proc. Electr. Micr. Meet. Cambridge, Sept. 20 (1948).

⁴ H. FERNÁNDEZ-MORÁN, Exp. Cell Res., 1, 309 (1950).

⁵ E. DE ROBERTIS und F. O. SCHMITT, J. Cell. Comp. Phys. 31, 1 (1948).

weisen eine ähnliche lamelläre Struktur mit abgerundeten Konturen, nach Formalin- oder Osmiumfixierung auf. Noch dünnere ($0,1 \mu$) Quer- und Längsschnitte lassen eine *deutliche konzentrisch angeordnete, feine Schichtenstruktur in der ganzen Markscheide erkennen*, wobei die Dicke der Einzelschichten konstant ist und durchschnittlich 80 \AA beträgt (Abb. 2). Außer dieser allgemeinen Schichtenstruktur, die meistens erst nach schräger Metallbedampfung deutlich zu erkennen ist, wurde ein außerordentlich scharfgezeichnetes und gleichmäßiges System von parallel angeordneten Linien beobachtet, die in ununterbrochener Folge der konzentrischen Schichtung überlagert sind und ihren komplizierten Biegungen genau folgen (Abb. 3 und 4). Wie dieser ungewöhnliche Effekt, der bisher nur in osmiumfixierten Gefrierschnitten gefunden wurde, zustande kommt, läßt sich noch nicht sagen. Der gemessene mittlere Linienabstand von 58 \AA beim Frosch und 71 \AA beim Rattennerven stimmt jedoch auffallend mit der Dicke der Einzelschichten überein.

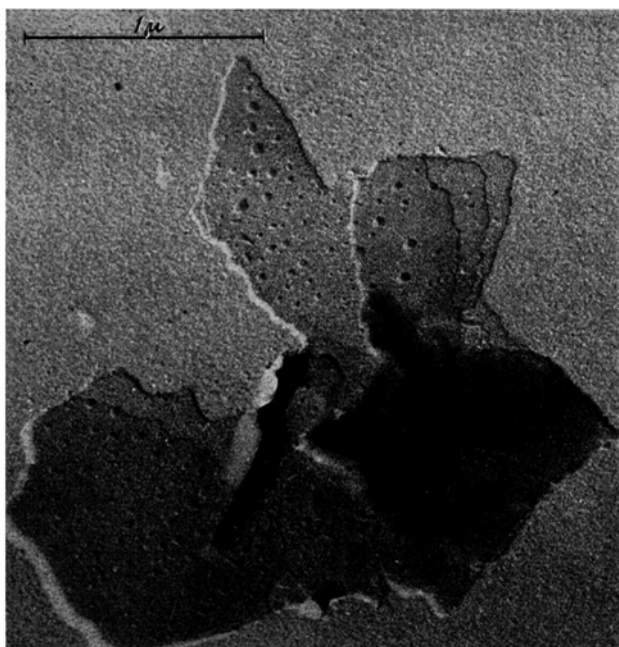


Abb. 1. Fragmentierte Myelinlamellen aus einem dicken Querschnitt der Ischiadicusfasern der Ratte in 1% Osmiumtetroxyd fixiert. Die fächerförmig abgestuften Einzellamellen mit der charakteristischen Oberflächen-Tröpfchenstruktur sind deutlich zu sehen. Schräg bedampft mit Platin/Palladium. Vergrößerung: $32000 \times$.

Nach weitgehender Entfernung der Lipide durch Alkoholätherextraktion des ganzen Nerven lassen sich dünne, konzentrisch angeordnete, $30\text{--}40 \text{ \AA}$ dicke Filme mit glatter Oberfläche nachweisen. Diese Filme sehen wie die gewöhnlichen Myelinlamellen aus, aber ohne die charakteristische Oberflächenstruktur, und stellen wahrscheinlich Proteinfilm oder stabile Lipoid-Proteinfilm dar. Nach längerer Einwirkung von Trypsin auf den frischen Nerven und nachträglicher Fixierung mit Osmiumtetroxyd bekommt man Myelinlamellen, die in stäbchenförmige Granula von $50\text{--}100 \text{ \AA}$ zerfallen. Replica-Abzugspräparate der äußeren Myelinschichten zeigen eine schuppenartige, gebrochene lamelläre Struktur. Auf Grund dieser Beobachtungen wird eine allgemeine konzentrische Schichtenstruktur der Myelinscheide angenommen, die weitgehend mit den Ergeb-

nissen der Analyse mit polarisiertem Licht¹ und der Röntgendiffraktionsstudien² übereinstimmt. Die gemessene Schichtendicke von 80 \AA stellt zwar nur die



Abb. 2. Segment der Markscheide von einem dünnen ($0,1 \mu$) longitudinalen Gefrierschnitt des osmiumfixierten Rattenschiadicus. 6 scharf abgegrenzte Schichten von je 70 \AA Dicke sind hier zu sehen. Platin/Palladium-bedampft. Vergrößerung: $120000 \times$.

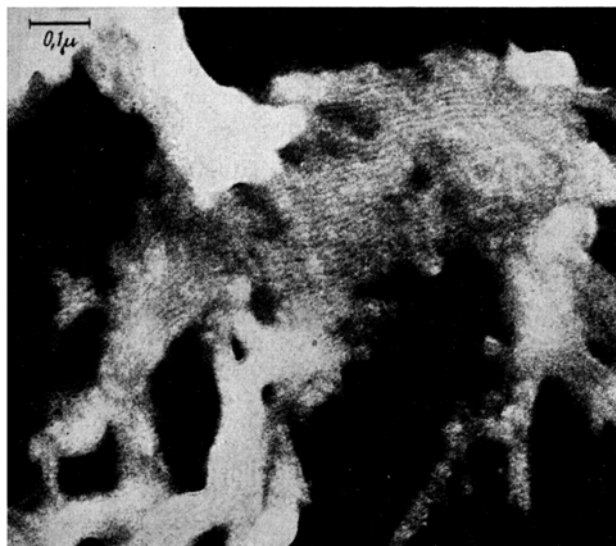


Abb. 3. Markscheidensegment von einem dünnen longitudinalen Gefrierschnitt des osmiumfixierten Rattenschiadicus. 25 ununterbrochene, parallel verlaufende Linien können hier gezählt werden und entsprechen wahrscheinlich der konzentrischen Schichtenstruktur der Markscheide. Platin/Palladium-bedampft. Vergrößerung: $80000 \times$.

¹ G.F. GÖTHLIN, Kungl. Sv. Vet. Akad. Handl. 51, 1 (1913). – W.F. SCHMIDT, Z. Zellf. u. mikr. Anat. 23, 657 (1936). – F.O. SCHMITT und R.S. BEAR, Biol. Rev. 14, 27 (1939).

² G. BOEHM, Koll. Z. 62, 22 (1933). – F.O. SCHMITT, R.S. BEAR und G.L. CLARK, Radiology 25, 131 (1935). – F.O. SCHMITT, R.S. BEAR und K.J. PALMER, J. Cell. Comp. Phys. 18, 31 (1941). – F.O. SCHMITT, Biochimica et biophysica acta 4, 68 (1950).

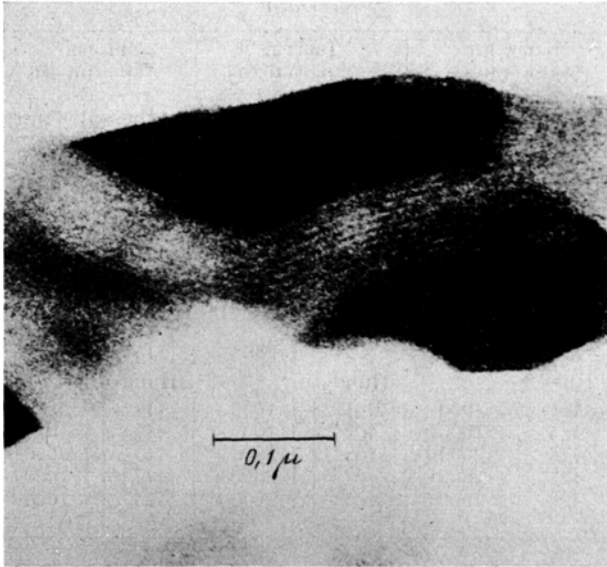


Abb. 4. Markscheidensegment von einem dünnen longitudinalen Gefrierschnitt des osmiumfixierten Ratten-schiadicus. Das scharfe und außerordentlich regelmäßige System von parallelen Linien folgt den Konturen einer Spalte in der Scheide. Platin/Palladium-bemalt. Vergrößerung: 160000 \times .

Hälfte der Röntgendiffraktions-Identitätsperiode von 158 Å beim getrockneten Säugetiernerven dar, aber dieser Befund ließe sich durch die Annahme einer Unterteilung der Hauptschichten in zwei Hälften (etwa durch Einschieben einer Proteinschicht) erklären.

2. Ein dichtes Netz von 100–200 Å dicken Fibrillen mit regelmäßig angeordneten Auftreibungen («nodöses» Aussehen) kleidet die innere Wand der Myelinscheide aus und geht in das feine Retikulum des Achsen-

zylinders über. Dieses Netz, welches seiner Lage nach dem Axolemma entspricht, hat lange, longitudinal angeordnete trabekuläre Verstärkungen (0,2–0,6 μ), die aus dicht zusammengeflochtenen Fibrillenbündeln bestehen. In formalin- und osmiumfixierten Nerven und besonders in Kollodium eingebettetem Material läßt sich ein weitmaschiges Netz von transversal oder schräg longitudinal verlaufenden nodösen Filamente (100–200 Å dick) im Achsenzylinder nachweisen. Das Innere des Achsenzylinders ist mit einer granulären Masse gefüllt, die sich auf den Maschen des Retikulums niederschlägt. Ein ähnliches Retikulum ist von SCHMITT¹ im Axon der Riesenfaser von *Loligo* und *Myxicola* und neuerdings von GEREN und SCHMITT² in Schnittpräparaten von Nerven des Menschen, Frosches und der Ratte beobachtet worden.

Die beschriebenen Strukturen sind im Diagramm eines zylindrokonischen Segmentes schematisch dargestellt (Abb. 5), um ein allgemeines Bild der submikroskopischen Organisation der Nervenfasern in diesem Abschnitt zu geben. Die Neurilemma (N) mit den anhaftenden Kollagenfaserbündeln (c) und mit den dunklen, glatten Fibrillen (e) umhüllt die schuppenartige, lamelläre Struktur, die den äußeren (gebrochenen) Schichten des Myelins entspricht. Die Markscheide (M) wurde schematisch als eine Serie von (50) dünnwandigen Röhren, die konzentrisch ineinander passen und durch unregelmäßige Lücken stellenweise von einander getrennt sind, dargestellt. Diese Lücken sind vielleicht im natürlichen Zustand mit Flüssigkeit angefüllt. Die konzentrisch angeordneten Schichten erscheinen als aufgestapelte Lamellen im Ausschnitt. Schließlich wird die innere netzartige Membran (als Ax [= Axolemma] be-

¹ F. O. SCHMITT, Progr. Ann. Meet. Electr. Micr. Soc. Amer. Oct. 8 (1949).

² GEREN und F. O. SCHMITT, J. Exp. Med., im Druck.

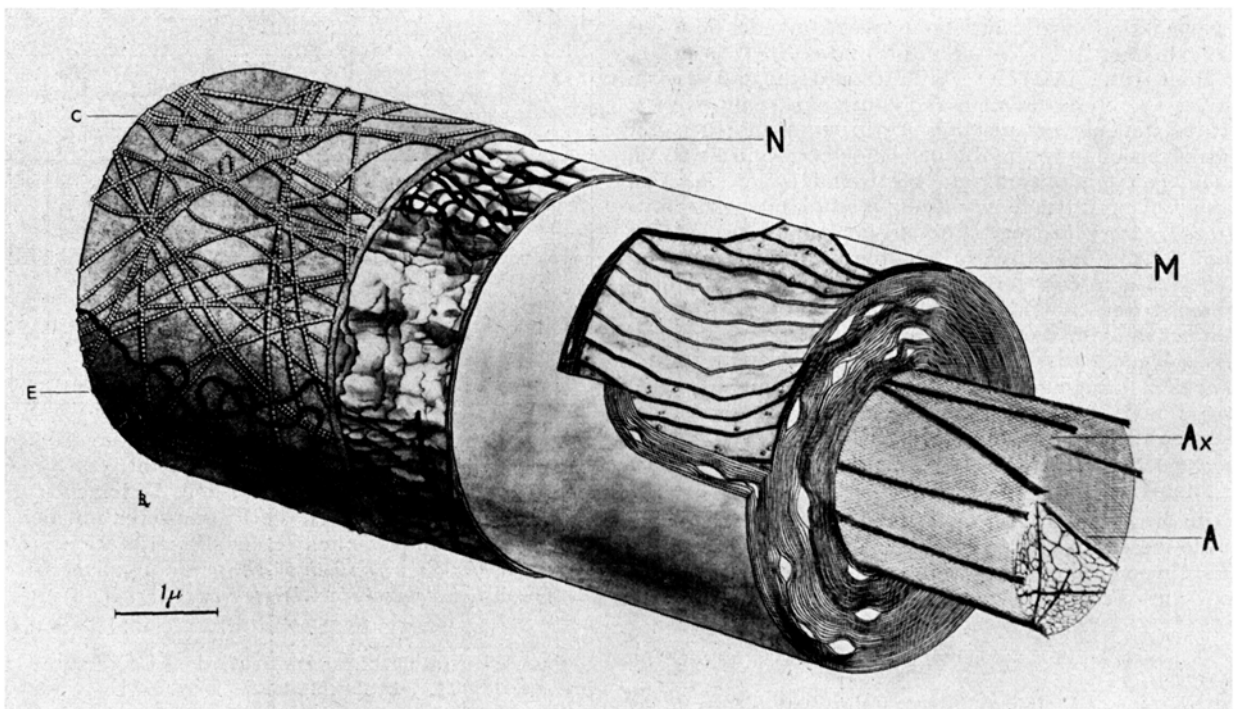


Abb. 5. Schema des internodalen Abschnittes einer markhaltigen Faser (entspricht ungefähr einem zylindrokonischen Segment). Erklärung im Text. Vergrößerung: 13000 \times .

zeichnet) mit den trabekulären Verstärkungen und ferner das feine Retikulum des Achsenzylinders (A) angedeutet.

HUMBERTO FERNÁNDEZ-MORÁN

Institut für Zellforschung, Karolinska Institutet, Stockholm, den 20. Februar 1950.

Summary

Ultrathin serial frozen sections of frog and rat sciatic nerves fixed with osmic acid and formalin and prepared with a described modification of the thermal expansion sectioning technique, were examined with the electron microscope. The following structures are described in the internode portion of the nerve fibres: (1, a) The myelin sheath is covered with a 200 Å thick compact granular membrane which corresponds to the neurilemma. (b) The main part of the myelin sheath separates into concentric rings from which thin lamellae peel off. The unit lamellae are 50 Å thick, with a variable granular surface structure 50–100 Å high. The sheath exhibits a concentric laminated fine structure in thin transverse and longitudinal sections, with an average layer thickness of 80 Å. A concentric system of extremely regular and uniform lines, super-imposed upon the concentric lamination of the sheath, with an average line-spacing of 70–80 Å, was seen consistently in osmic acid fixed frozen sections. Based on these observations a general concentric laminated structure of the myelin sheath is assumed. (2) Thin nodose filaments, 100–200 Å in width, are found in the axis cylinder, forming a network which is filled with a granular substance. A dense net of interlaced nodose fibrils, 100–200 Å in width, coats the internal sheath wall and provides the basis for the fine reticulum in the axis cylinder.

Über die Artspezifität von Aktin

Es ist von einiger Bedeutung, zu wissen, welche Antigeneigenschaften die für die Kontraktion des Muskels maßgeblichen Proteine – Myosin und Aktin – besitzen. In einer frühern Arbeit¹ wurde festgestellt, daß Myosin ein artspezifisches Protein und Aktin ein Isoantigen ist: intraperitoneal verabreichtes Aktin von Kaninchen gibt Antikörperbildung im Kaninchen selber; es ist also im homologen Organismus ein blutfremdes Protein. Von italienischen Autoren wurde in dieser Zeitschrift mitgeteilt², daß ein gegen Adenosintriphosphat (ATP) empfindliches Aktomyosin erhalten werden kann, wenn Myosin und Aktin verschiedener Tierarten zusammengebracht werden. Das gilt für Aktin und Myosin vom Kaninchen, von der Taube, vom Frosch und von gewissen Knochenfischen, jedoch nicht für das Myosin der Languste. Langustenaktin gibt hingegen ein mit ATP reagierendes Aktomyosin, wenn es mit Myosin der genannten Spezies vereinigt wird. Man kann also mit diesem Versuch das Aktin der Languste nicht von dem anderer Tiere unterscheiden.

Um die Artspezifität von Aktin näher zu untersuchen, wurde dieser Eiweißkörper aus Kaninchen und Taubenmuskeln nach der modifizierten Methode von STRAUB³ und aus Froschmuskeln nach dem Verfahren von

¹ L. KESZTYÜS, S. NIKODÉMUSZ und T. SZILÁGYI, Nature 163, 136 (1949).
² M. CIGADA, P. CITTERIO, S. RANZI und L. TOST, Exper. 4, 480 (1948).
³ G. FEUER, F. MOLNÁR, E. PETTKÓ und F. B. STRAUB, Hung. acta physiol. 1, 150 (1947).

Tabelle I

Kaninchen-Aktin-Antigen Kaninchen-Aktin-Antikörper		Tauben-Aktin-Antigen Tauben-Aktin-Antikörper		Frosch-Aktin-Antigen Frosch-Aktin-Antikörper	
Nr. (Kaninchen)	Präzipitationstiter	Nr. (Kaninchen)	Präzipitationstiter	Nr. (Kaninchen)	Präzipitationstiter
324	1:128±	301	1:32±	311	–
325	1:256+	302	1:128+	312	1:500+
326	1:256±	303	1:500±	313	1:256±
327	1:64+	304	–	314	–
328	–	305	1:256+	315	1:64±
Hund		Hund		Hund	
424	1:1000+	401	1:1000+	411	1:500±
425	1:1000±	402	1:1000+	412	1:1000+
426	1:2000+	403	1:1000±	413	1:2000±
427	1:2000±	404	1:2000±	414	1:1000+
428	1:2000±	405	1:2000+	415	1:1000+

HORVÁTH¹ dargestellt. Je 5 Kaninchen und je 5 Hunde wurden durch intravenöse bzw. durch intraperitoneale Injektionen zunehmender Mengen von Aktinlösungen jeden dritten Tag fünfmal immunisiert. Insgesamt erhielt jedes Tier 140–180 mg Aktin. 10 Tage nach der letzten Injektion wurde Blut entnommen und die Präzipitation geprüft. Zuerst wurden die Antisera mit dem homologen Antigen zusammengebracht. Wie aus Tab. I ersichtlich ist, verhalten sich alle drei Aktine als Antigene. Es ist überraschend, daß die Immunsera von Hunden einen höheren Präzipitationstiter haben als die der Kaninchen. Dies weist darauf hin, daß sich entsprechend der allgemeinen Erfahrung auch solche Proteine darunter befinden, die in Hunden eine stärkere Antikörperbildung hervorrufen als in Kaninchen. Wir haben deshalb Kreuzreaktionen mit Immunseren von Hunden durchgeführt. Diese Ergebnisse (Tab. II)

Tabelle II

Immunsera (Hund)	Nr.	Kaninchen- aktin	Tauben- aktin	Frosch- aktin	Serum- proteine		
					K.	T.	F.
Kaninchen- aktin	426	1:2000	1:2000	1:2000	Ø		
	427	1:2000	1:2000	1:2000	Ø		
	428	1:2000	1:2000	1:2000	Ø		
Taubenaktin	403	1:1000	1:1000	1:1000		Ø	
	404	1:2000	1:2000	1:2000		Ø	
	405	1:2000	1:2000	1:2000		Ø	
Froschaktin	413	1:2000	1:2000	1:2000			Ø
	414	1:1000	1:1000	1:1000			Ø
	415	1:1000	1:1000	1:1000			Ø

zeigen, daß die Aktinimmunseren nicht nur die homologen, sondern auch die heterologen Antigene präzipitieren. Im Präzipitationstiter ist kein Unterschied festzustellen. Natürlich geben die Immunseren mit den homologen Serumproteinen keine Präzipitation. Diese Resultate beweisen, daß das Aktin ein organspezifisches Antigen ist, welches keine Artspezifität besitzt.

L. KESZTYÜS, S. NIKODÉMUSZ und T. SZILÁGYI

Pathophysiologisches Institut der Universität Debrecen, den 21. Oktober 1949.

¹ I. HORVÁTH, J. KOCH und J. SZERB, Hung. acta physiol. 2, 134 (1949).