

gen auf, als die bei Kernreaktionen aus dem Hauptgitter herausgeworfenen radioaktiven Isotope auch aus dem Innern der Festkörperverbindungen weitgehend herausgeholt werden können.

Es werden hier ähnliche Verhältnisse gefunden, wie sie JORDAN¹ bei der Isolierung von ²⁸Al aus Infusorien-erde angetroffen hatte. Bei Ausführung der Reaktion ²⁸Si (n, p) ²⁸Al an diesem ausserordentlich porösen Material konnte er etwa 60% des aktiven Al mit Aluminiumlösung extrahieren.

Wir verdanken die Mittel zur Ausführung dieser Arbeit der Schweizerischen Studienkommission für Atomenergie.

W. BUSER und U. IMOBESTEG

Institut für anorganische, analytische und physikalische Chemie der Universität Bern, den 11. April 1953.

Summary

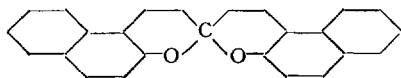
Exchange experiments at room temperature with differently labelled Co^{II} [Co^{II}Co^{III}(CN)₆]₂ (the difference in labelling depends upon which Co is made radio-active) indicate that Co is bound in three different ways. The amount of exchange of Co^{III} in the complex was negligible. The Co^{II} statistically occupying the holes in the main cubic lattice (Zwischengitter) exchanges quickly and completely, while the remaining Co^{II} participates slowly in exchange reactions.

Due to the SZILARD-CHALMERS effect, ⁶⁰Co accumulated in the holes of the main cubic lattice of Cu^{II}[Cu^{II}Co^{III}(CN)₆]₂ which had been exposed to neutron bombardment. This ⁶⁰Co was removed from the interior of the solid compound by exchange with Cu²⁺ and electrolytically separated. The enrichment was greater than 10⁶, and approximately 60% of the ⁶⁰Co could be extracted.

¹ Diss. P. JORDAN, ETH. Zürich (1951).

The Thermochromism of Di-β-naphthospiropyran

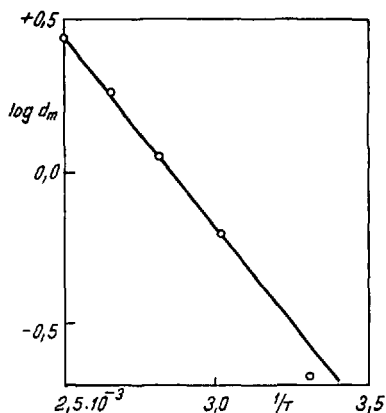
In order to make systematical investigations of light absorption by thermochromic substances depending on temperature, a HILGER SPEKKER equipment was completed with a bronze block acting as a constant temperature bath. This block contains the two tubes for the solution and for the solvent and is placed in the path of the parallel beams. It is heated and controlled electrically. The temperature can be increased from room conditions up to 130°C.



As a first representative of a series of spiropyrans¹ di-β-naphthospiropyran in phenetole was investigated. Owing to the changes in absorption, high concentration was applied at low temperatures and a lower one at higher temperatures. Spectra have been taken at approximately 29, 58, 82, 105 and 127°C and show one thermochromic absorption band in the green. Plotting the

¹ Concerning chemistry of spiropyrans and further references see A. MUSTAFA, Chem. Rev. 43, 509 (1948), and R. WIZINGER and H. WENNING, Helv. chim. Acta 23, 247 (1940).

logarithms of the maximum densities against the reciprocal of the absolute temperature, one obtains a fair straight line. The discrepancy at room temperature may



result from the more moderate accuracy due to the very low absorption. Supposing, as usual, the effect to consist of the thermal conversion of non-absorbing molecules to absorbing ones, we can use the slope of this straight line to find the activation energy *Q* of this conversion:

$$Q = \frac{\log d_{m2} - \log d_{m1}}{1/T_1 - 1/T_2} \cdot \frac{R}{\log e}.$$

The result is 5.80 kilocalories. These investigations will be continued and details will be published later on.

A. W. REITZ and T. KALAFAY

Faculty of Science, Fouad I University, Cairo, July 15, 1952.

Zusammenfassung

Als erstes Beispiel systematischer quantitativer Untersuchungen zur Thermochromie organischer Substanzen wurde Di-β-naphthospiropyran spektroskopiert und die Aktivierungsenergie der Umwandlung in die absorbierende Form zu 5,80 kcal/mol bestimmt.

Contribution à l'étude des équivalents des mitochondries dans les bactéries

MUDD *et al.*¹ ont décrit ce qu'ils appellent les mitochondries bactériennes qu'ils ont mises en évidence par différentes méthodes de coloration. Au Congrès international de Microscopie électronique, Paris 1950, – dont les comptes rendus n'ont pas encore paru – nous avons présenté une méthode qui permet de voir ces structures au microscope électronique; nous les avons appelées alors «corps métaboliques». Ces corps se colorent au tétrazol et diffèrent des nucléoïdes. Nous pensons que les résultats obtenus grâce à cette méthode n'ont pas perdu de leur actualité et complètent ceux de MUDD *et al.* Par analogie avec le terme de nucléoïde – équivalent de noyau, nous proposons le terme de chondrioïde – équivalent de mitochondrie.

Pour l'examen au microscope électronique, la méthode de réplique sur frottis nous a permis de constater –

¹ S. MUDD, A. F. BRODIE, L. C. WINTERSCHIED, P. E. HARTMANN, E. H. BEUTNER et R. A. Mc LEAN, J. Bact. 62, 729 (1951). – S. MUDD, L. C. WINTERSCHIED, E. D. DELAMATER et J. HENDERSON, J. Bact. 62, 459 (1951). – L. C. WINTERSCHIED et S. MUDD, Amer. Rev. Tuberculosis 67, 59 (1953).

presque toujours chez *Echerichia coli*, souche B, et souvent chez *Bacillus cereus*, souche Caron – la présence d'une ou de plusieurs (le plus souvent deux) masses globulaires dans chaque cellule. En étudiant les conditions favorables à l'apparition de ce phénomène, nous avons établi la méthode suivante qui donne une bonne révélation pour *E. coli* B et *B. cereus*:

1° On étale sur une lame de verre 0,05 cm³ d'une suspension bactérienne en milieu nutritif (bouillon ou milieu synthétique) ou en solution tampon.



Fig. 1. *B. cereus*. Après séchage rapide.

2° On laisse sécher à l'air à une température de 15° à 25° C. Ce séchage lent ne doit pas se prolonger au-delà de 2 à 3 h.

3° On ajoute de l'eau distillée (environ 0,05 cm³) et on répète le séchage lent. Il est avantageux d'y ajouter du tétroxyde d'osmium jusqu'à l'obtention d'une solution de 2%.

4° On déshydrate complètement sous vide à 60°, puis on lave brièvement à l'eau distillée; on sèche le frottis et on confectionne la réplique au moyen du procédé celluloïd-silice¹.

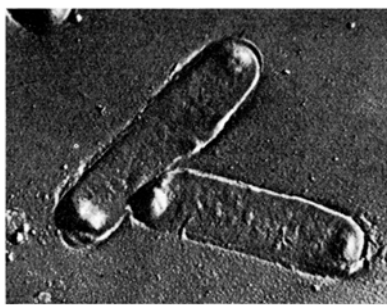


Fig. 2. *B. cereus*. Révélation des chondrioides par la méthode de séchage lent.

Si l'adhérence des cellules au celluloïd est trop grande, on peut dissoudre celles-ci dans une solution de papaine à 1% qu'on laisse agir pendant 12 h environ.

L'importance du séchage lent pour la révélation des chondrioides est mise en évidence par la comparaison des Figures 1 et 2: La première montre une réplique de *B. cereus* séché sous vide immédiatement après l'étalement. La cellule est uniformément remplie de matière et les masses globulaires ne sont pas visibles. La Figure 2 montre des bacilles de la même culture mais après un séchage lent: La cellule apparaît plate avec, aux pôles, des chondrioides saillants. Les conditions de séchage étant peu constantes et difficilement contrôlables, il en résulte des variations dans la dimension des chondrioides, mais leur emplacement reste inchangé. Par

ailleurs, l'augmentation de la concentration saline qu'entraîne le séchage du milieu produit certainement deux effets: le premier consiste à déranger l'équilibre physiologique de la cellule vivante encore. Il est plus ou moins marqué suivant la durée du premier séchage lent. Le deuxième est d'ordre purement chimique, c'est une extraction sur la cellule morte. A titre d'exemple, les Figures 3 et 4 montrent des divisions cellulaires que cette influence physiologique a dérangées.



Fig. 3 et 4. *B. cereus*. Divisions cellulaires, méthode de séchage lent.

Comparons ces résultats avec ceux que donnent les méthodes de coloration. La coloration vitale des lieux de réduction par le tétrazol Bayer¹, méthode introduite en bactériologie par BIELIG, KAUSCHE et HAARDICK² se fait aux endroits occupés par nos masses globulaires. Il se forme des globules réfringents, composés de formazan, dont la couleur peut varier du jaune au rouge et qui sont plus petits que nos masses observées aux microscope électronique. Le formazan reste en place si l'on procède au séchage lent après la coloration vitale; si nous observons une telle préparation au microscope à contraste de phase, nous pouvons voir à la fois nos masses globulaires et le dépôt de formazan. On peut affirmer que les endroits de réduction sont situés dans ces masses.

La réduction du tétrazol et la coloration au vert Janus³ sont des réactions spécifiques des mitochondries des cellules tissulaires. On sait également que lors d'extractions à l'aide de solutions concentrées de KCl, les mitochondries des cellules hépatiques restent intactes⁴. Or notre méthode de séchage lent dans le milieu de culture comprend une augmentation graduelle de la concentration saline qui entraîne à son tour une extraction sélective de substance tout en laissant les chondrioides

¹ Nous remercions la maison Bayer de nous avoir gracieusement fourni le tétrazol.

² H. G. BIELIG, G. A. KAUSCHE et H. HAARDICK, Z. Naturforsch. 46, 80 (1949).

³ O. GRAFFI, Diskussionsbemerkung zu G. PIEKARSKI, Die Zellkernäquivalente der Bakterie, Coll. dtsh. Ges. physiol. Chem. 1951, 100, – S. MUDD, A. F. BRODIE, L. C. WINTERSCHIED, P. E. HARTMANN, E. H. BEUTNER et R. A. MC LEAN, J. Bact. 62, 729 (1951).

⁴ E. D. P. DE ROBERTIS, General Cytology (Saunders, Philadelphia 1949), p. 93.

¹ E. KELLENBERGER, Exper. 4, 449 (1948). – E. KELLENBERGER et P. DINICHERT, Exper. 4, 407 (1948).

intacts. Dans ce sens, nos observations sont un argument supplémentaire en faveur d'une équivalence de ces structures avec les mitochondries. Sans les identifier avec les mitochondries tissulaires, dont l'organisation est très compliquée, nous désirons rappeler ces analogies en proposant le terme de *chondrioides*.

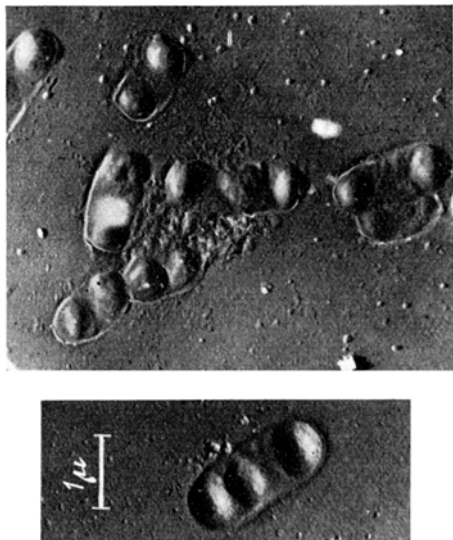


Fig. 5 et 6. Répliques *Escherichia coli* B (en croissance exponentielle): Révélation des chondrioides par la méthode de séchage lent.

Les *nucléoides*, colorés par la méthode hydrolyse-Giemsa de PIEKARSKI-ROBINOW¹ consécutive à un séchage lent, sont nettement disposés «entre» les chondrioides, soit plus près du centre de la cellule; ils ne sont donc nullement superposables aux chondrioides.

Nous remercions la «Fondation Fritz Hoffmann-La Roche pour l'expansion en Suisse du travail scientifique exécuté par équipe» pour l'aide généreuse qu'elle nous a apportée.

E. KELLENBERGER et LUCIE HUBER

Institut de physique, Université de Genève, le 6 mai 1953.

Summary

When slowly dried up in their culture medium, bacteria show chondrioids (equivalents of mitochondria) which are entirely different from the nucleoids (equivalents of nuclei). Observations are made in the electron microscope by means of the replica technique, or directly with the phase contrast microscope. The chondrioids contain the Formazan deposited by vital reduction of Tetrazol.

¹ C. G. ROBINOW, Addendum de DUBOS, *The bacterial Cell* (Harvard University Press, Cambridge, Mass., 1949).

Observations on the Fixation *in vitro* of Uranium to Sections of Bone

Evidence that a great part of the uranium injected into the living animal is readily deposited in bone tissue has been supplied by W. F. NEUMAN *et al.*¹. The same authors have analysed *in vitro* the interaction between

bone minerals and phosphate buffers containing radioactive P; they maintain that fixation of isotopes to bone tissue involves both an exchange reaction between cations of the solid and of the fluid phase and a process of recrystallisation.

The results of an autoradiographic study of ground sections of bone treated *in vitro* with radiocalcium and radiophosphorus have been reported in previous papers¹. These experiments have consistently shown that a relatively greater amount of labelled Ca and P gets fixed *in vitro* (as well as *in vivo*²) to recently laid down, less calcified structures of bone in comparison with more calcified, older structures. The present paper is a preliminary report on the results of an autoradiographic study of the fixation of U to bone sections *in vitro*.

Technique. Ground sections (from 30 to 45 μ in thickness) of compact bone were treated with a 1% solution of uranyl nitrate in a 0.025 N buffer of NaHCO₃. Whole fresh bone, bone fixed in 95° ethanol or formalin, and bone freed of its organic components were studied. After U treatment, the sections were washed for 2 or 3 days in frequently renewed distilled water, air dried at room temperature and tightly pressed in a photographic printing frame against the emulsion side of C₂ Ilford Nuclear Research plates, 50 μ of emulsion thickness.

A quantitative analysis of the U deposited in the various structures of the same section of bone was attempted by counting the α tracks in a sufficient number of microscopic fields. In order to compare the α activity of bone sections which underwent different treatments (see further on), a single large section of uniform thickness was divided into various sectors. Each sector was separately treated. All the sectors were then exposed together for the same length of time on the same autographic plate, and the α activity of *structurally corresponding regions* in the various sectors compared.

Quantitative historadiography (ENGSTRÖM) was applied to the bone sections prior to treatment with U, to estimate the degree of relative calcification of recently built and old structures³.

Results. (1) The uptake of U for unit volume of section is from 30% to 100% greater in recently built primary or secondary bone than in old bone tissue. The degree of calcification in recently laid down structures resulted to be from 10% to 25% lower than in the neighbouring old bone tissue.

The *distribution* of U in bone seems, therefore, to be qualitatively identical to that previously described for Ca⁴⁵. However, the differential uptake in recent as compared to old bone tissue is much greater for radiocalcium than for U (Fig. 1 and 2).

(2) Removal of the organic components from bone ground substance increases the ability of bone tissue to fix U. The amount of U deposited in sections ashed at 600° to 700°C for 3 to 4 h is from 15% to 30% greater than in control sections of whole bone; 4 times greater than in whole bone in sections boiled for 24 h in distilled water⁴; from 6 to 8 times greater in sections treated with boiling glycol/K hydroxide (GABRIEL).

¹ R. AMPRINO, Exper. 8, 20 and 380 (1952); Z. Zellforsch. 37, 240 (1952).

² For the distribution of P *in vivo*, cf. B. ENGFELDT, A. ENGSTRÖM, and R. ZETTERSTRÖM, Bioch. Bioph. Acta 8, 375 (1952).

³ Technical details, cf. R. AMPRINO and A. ENGSTRÖM, Acta Anat. 15, 1 (1952). – R. AMPRINO, Z. Zellforsch. 37, 144 (1952).

⁴ According to DALLEMAGNE *et al.* (Arch. intern. Physiol. 57, 411 [1950]) this treatment removes from bone ground substance nearly all the organic components, a remarkable amount of minerals and a great part of the carbon dioxide.

¹ M. W. NEUMAN and W. F. NEUMAN, J. biol. Chem. 175, 711 (1948). – W. F. NEUMAN, M. W. NEUMAN, and B. J. MULRYAN, J. biol. Chem. 175, 705 (1948). – W. F. NEUMAN and B. J. MULRYAN, J. biol. Chem. 185, 705 (1950); 193, 237 (1951).