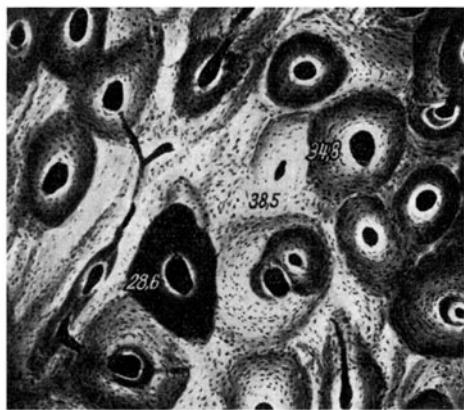


somewhat elastic, it is not an ideal substance for hardness testing, and the values given in the Table are therefore not absolute. From the form of the impressions it



Detail of a microradiogram ($\times 115$) of a thin cross-section from human femur registered with "soft" X-rays. The numbers indicate the hardness of three Haversian systems with different degree of mineralization.

could be seen that the less mineralized Haversian systems are more elastic than areas with higher mineralization. This circumstance accentuates the differences in hardness given below.

Degree of mineralization

Low	Medium	High
30.3	33.8	37.8
28.7	34.3	37.3
31.3	35.7	36.6
27.0	34.8	41.3
31.8		38.5
28.7		
28.6		
Average: 29.5 kg/mm ²	34.7 kg/mm ²	38.3 kg/mm ²

In this communication, only a few micro-hardness measurements are given, but it is quite clear that there is a close relationship between the degree of mineralization and the hardness of different structures of bone.

I wish to thank Prof. E. RUDBERG and Mr. S. MODIN, The Metallographic Institute, Stockholm, for the permission to use their micro-hardness testing equipment and also for valuable discussions.

D. CARLSTRÖM

Department for Physical Cell Research, Karolinska Institutet Stockholm, January 6, 1954.

Zusammenfassung

Mit Hilfe von weichen Röntgenstrahlen wurde die Mineralsalzverteilung über den Querschnitt des menschlichen Femur registriert. Mittels eines Mikrohärteprüfers wurden die Orte hohen, mittleren und niedrigen Mineral-salzgehaltes geprüft. Es ergab sich eine gute Übereinstimmung zwischen dem Grad der Mineralisierung und der Härte des Knochens.

Mikroskopische Studien *in vivo* zur Zytologie der Hefezelle

Im Gegensatz zu der erstaunlich weitgehend geklärten Enzymatik der Hefe herrschen im Bereich der Hefezytologie zum Teil sehr unklare Vorstellungen. Einer der Hauptgründe hierfür liegt darin, dass es mit den üblichen Kernfarbstoffen nicht gelingt, einen charakteristischen Kern in verschiedenen Phasen – vergleichbar demjenigen höherer Zellen – nachzuweisen. Mit ihnen färben sich sehr differente basophile Teile der Hefezelle an. Bei Anwendung der Feulgenschen Nuklealreaktion lässt sich nur ein mehr oder minder gekrümmtes, stäbchenförmig erscheinendes Gebilde als desoxyribonukleinsäurehaltiges Euchromatin ansprechen. In Abkehr von der bisher bei zytologischen Untersuchungen allgemein angewandten Fixierung und den dadurch bedingten Artefakten wurden eigene Beobachtungen *in vivo* mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens und nach Fluoreszenzmikroskopie angestellt. Dabei zeigte sich folgendes:

Ergebnisse

1. *Phasenmikroskopische Untersuchung.* Das phasenoptisch erhaltene Bild zeigt inmitten der Hefezelle eine hell erscheinende, auffallend grosse, oft etwas exzentrisch gelegene Vakuole, der ein dunkler Körper aufgelagert ist. Dieser, ein dunkles (bläschenförmiges?) Gebilde, verhält sich phasenoptisch vergleichbar dem Interphasenkern höherer Zellen. In dem Zytoplasma lassen sich oft bis zu 15 dunkle (bei extrafokaler Einstellung allerdings hell erscheinende) Grana nachweisen (Abb. 1).

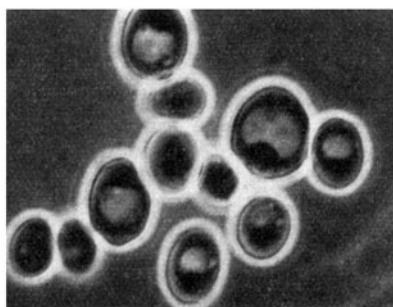


Abb. 1. *Saccharomyces cerevisiae*,
Phasenkontrast 1600:1.

2. *Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung.* Bei diesen Untersuchungen konnte zunächst von den Erfahrungen STRUGGERS¹ ausgegangen werden, die dieser im Zusammenhang mit der Akridinorange-Fluorochromierung an Hefezellen gewonnen hat. Bei der Anwendung des gleichen Verfahrens konnten seine Ergebnisse vollauf bestätigt werden. Die Vakuole erscheint hier als dunkler Hohlräum (Abb. 2). Ihr lagert ein grün fluoreszierender sphärischer Körper auf, der dem phasenoptisch in positivem Kontrast darstellbaren entspricht. Jedoch erreicht seine Fluoreszenzintensität die der Interphasenkerne höherer Zellen nicht. Fast regelmäßig erkennt man – in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Feulgen-Färbung – an der Wandseite dieses relativ chromatinarmen (bläschenförmigen?) Körpers ein mehr oder minder gekrümmtes, in der Projektion meist schiefförmig erscheinendes Gebilde, welches intensiver

¹ S. STRUGGER, Flora 137, 73 (1943).

und mehr gelbgrün leuchtet. In dem gering fluoreszierenden Zytosplasma liegen die gelbrot leuchtenden, stark basophilen Grana. Besonders interessant aber war deren

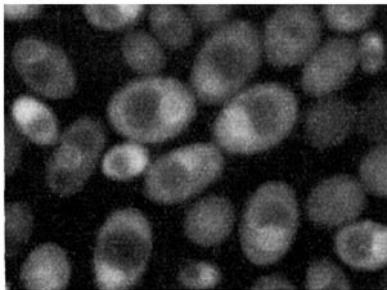


Abb. 2. *Saccharomyces cerevisiae*, Akridinorange 1:5000,
Fluoreszenz 1600:1

Verhalten einem zweiten Fluorochrom gegenüber, dem Berberinsulfat (Abb. 3). Von ihm wurden die Grana *in vivo* selektiv tingiert und leuchteten allein in gelb-

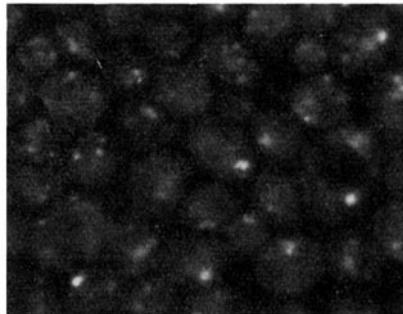


Abb. 3. *Saccharomyces cerevisiae*, Berberinsulfat 1:1000,
Fluoreszenz 1600:1.

grünem Fluoreszenzlicht. Kern, Plasma und Vakuole zeigen im ungeschädigten lebenden Zustand keine Affinität zu diesem Farbstoff.

Diskussion

Zur Interpretation der Kernverhältnisse stehen zwei Ansichten zur Diskussion: Die erste, von ROCHLINA¹, bezeichnet das der grossen Vakuole aufsitzende Gebilde als chromatinarme Kernblase, während das euchromatische Kernmaterial sich an einer Wandseite angeordnet finden soll. Die zweite Ansicht ist die von LINDEGREEN². Nach ihr ist die grosse, bisher als Zellsafräum angesprochene Vakuole als Kern aufzufassen, während dem von ROCHLINA als «Kern» angesprochenen Gebilde lediglich die Bedeutung eines Zentrosoms zugeschrieben wird. Ohne sich auf eine der möglichen Deutungen festlegen zu wollen, möchte ich das Feulgen-positive Gebilde, das sich fluoreszenzmikroskopisch deutlich darstellen lässt, als euchromatisches Kernäquivalent betrachten. Auch bezüglich der Kernteilungsverhältnisse (Mitose oder Amitose?) besteht bisher noch keine allgemein anerkannte Meinung.

Was die Bedeutung der metachromatischen Körpchen (syn. Volutingranula) anbetrifft, so bestehen auch hier die verschiedensten Ansichten. Da in der Hefezelle kein heterochromatisches Nukleolarsystem nachweisbar

war und CASPERSSEN und BRANDT¹ auf UV.-mikrospektrographischem Wege Nukleinsäuren (vom Ribose-Typ) in den Granula nachweisen konnten, wurden sie von diesen Autoren zum Nukleolus-Heterochromatin-System gehörig angesehen. Im Anschluss an den topochemischen Nachweis von Metaphosphaten in den Körnchen durch WIAME² sahen verschiedene Autoren, wie HOFFMANN-OSTENHOF und WEIGERT³, in ihnen lediglich Phosphatspeicher, vergleichbar den tierischen Phosphagenen. Durch den Nachweis der selektiven Berberinspeicherung aber (siehe oben) wird die Chondriosomenatur dieser Grana unterstrichen. Nach den Ergebnissen von SCHMITZ⁴ an Grana von Ascites-Tumorzellen und PERNER⁵ an Granula (sogenannten Mikrosomen) höherer Pflanzenzellen ist die Befähigung zur Berberinspeicherung *in vivo* an die Redox-Orte der Zelle gebunden. Eigene vergleichende Untersuchungen mit dem Redox-Indikator Neo-tetrazoliumchlorid (NTC.) bestätigten die Reduktionseigenschaften der Grana. Demnach sind in den metachromatischen Granula Chondriosomen der Hefe zu erblicken, die sich in diesem Falle durch besondere Metaphosphatpeicherung auszeichnen. Nach den Untersuchungen von ZOLLINGER u.a.⁶ ist das Vorkommen von Ribonukleinsäure in Chondriosomen obligat.

A. KRIEG

Mikrolaboratorium Zeiss-Winkel, Göttingen, den 16. November 1953.

Summary

In confirmation of STRUGGER's statements it is possible to demonstrate in yeast-cells the structure which is considered by ROCHLINA to be nuclear, by means of acridin orange in the fluorescence microscope (Fig. 2). The large vacuole contains no basophilic material and therefore appears dark. The metachromatic granula appear as small red luminous particles. An interesting fact is that they store selectively the respiratory-poison "berberin". Since berberin fluoresces deep yellow, it is possible in this manner to isolate the metachromatic granula (Fig. 3). The function of chondriosomes is attributed to the particles.

¹ T. CASPERSSEN und A. BRANDT, Protoplasma 35, 507 (1941).

² J. M. WIAME, Biochim. Biophys. Acta 1, 234 (1947).

³ O. HOFFMANN-OSTENHOF und W. WEIGERT, Naturwissenschaften 39, 303 (1952).

⁴ H. SCHMITZ, Naturwissenschaften 38, 405 (1951).

⁵ E. S. PERNER, Ber. dtsch. bot. Ges. 65, 52 (1952).

⁶ H. U. ZOLLINGER, Exper. 6, 14 (1950).

Partial Disintegration of Cytoplasmic Structures of *Amoeba proteus* after Fixation with Osmium tetroxide¹

It is generally assumed that cytological preparations for light microscopy fixed by osmium tetroxide are almost equivalent to the living state, because the structure of the hyaloplasm does not appear to be altered and the very unstable mitochondria are well preserved. Many authors, working with preparations for the electron microscope, also seem to regard osmium tetroxide as the best suited fixing agent² because it does

¹ Carried out with the aid of the Federal Commission for Advancement of Scientific Research from the Fund for Promoting Employment.

² K. R. PORTER and F. L. KALLMAN, Ann. New York Acad. Sci. 54, 882 (1952).

¹ E. ROCHLINA, Zbl. Bakt. II 88, 304 (1933).

² C. C. LINDEGREEN, Mycologia 37, 767 (1945).