

sondern um kleine Anteile aller Globulinfractionen. Die Ergebnisse führen zu dem Schluss, dass bei zunehmender Absorption von Kationen nur diejenigen Proteine im Sediment bleiben, denen anionische Gruppen verbleiben, die also nach Auflösung im alkalischen Barbituratpuffer am schnellsten zur Anode wandern. Das würde bedeuten, dass bei einem gegebenen pH nur ein Teil der Globuline mit Kationen abgesättigt wird, während ein anderer anionische Gruppen behält, sei es, dass diese im Innern des geknäuelten Moleküls liegen, sei es, dass jedes Proteinmolekül gleichviel Kationen absorbiert, ohne Rücksicht auf die Zahl seiner negativen Gruppen. Letztere Auffassung steht zunächst im Widerspruch zum Massenwirkungsgesetz.

Bei der Hitzedenaturierung wird elektrophoretisch wie chromatographisch ein Ladungsausgleich beobachtet. Daraus resultiert auch die einheitliche Fällbarkeit. Die Gesamtzahl der ionisierten Gruppen wird durch die Denaturierung nicht geändert, wie der unveränderte Säureverbrauch beweist¹.

K. Simon

Medizinische Universitäts-Poliklinik, München, den 4. Dezember 1953².

Summary

Diluted serum was treated with diluted acid. Between pH 6.8 and 6.5 a part of the globulines is precipitated whose composition changes in favour of the more rapidly migrating fractions with rising pH. Sera denaturated by heat are flocculated quantitatively and behave like one monodisperse protein also in electrophoresis and chromatography. This leads to the conclusion, other than after denaturation, that negative loads of native proteins possess different strengths of absorption toward H⁺.

¹ K. SIMON, Exper. 8, 55 (1952).

² Gegenwärtige Adresse: München-Solin, Whistlerweg 21.

PRO EXPERIMENTIS

Ein neuer Weg zur Gewinnung von Zellen- und Gewebestandteilen

Zellen- und Gewebestandteile lassen sich nach Gefriertrocknung in «nicht wässrigem» Milieu (BEHRENS, 1929) oder nach Homogenisieren in «wässrigem» Milieu (BENSLEY, 1934; DOUNCE, 1943) gewinnen. Bei beiden Methoden wird der ursprüngliche Zustand der histologischen Gebilde verändert. Der Wert der Trennungen wird dadurch wesentlich gemindert. Es wurde versucht, ein besseres Trennverfahren zu finden. Folgender Weg erwies sich als gangbar:

Die zu trennenden Gewebe werden in einem indifferenten Öl (Paraffinöl) emulgiert. Die histologischen Strukturen verteilen sich dabei, wie die mikroskopische Untersuchung zeigt, auf die verschiedenen Teilchen der dispersen Phase. Es gelingt nun, gleichartige Teilchen abzutrennen und damit bestimmte Zellen- und Gewebestandteile zu gewinnen. Die Trennung kann nach der Grösse durch dosiertes Zentrifugieren der Emulsion oder nach dem spezifischen Gewicht in geeigneten Tetrachlorkohlenstoff-Petroläther-Mischungen erfolgen. Der

Austausch des Öls durch diese Mischungen bietet keinerlei Schwierigkeiten. Bis jetzt wurden mit der neuen Methode Zellkerne aus Erythrozyten von Scyllium, aus dem Hepato-Pankreas des Octopus und der Leber der Maus isoliert.

Da die Zellkerne nur mit Paraffinöl, Tetrachlorkohlenstoff und Petroläther in Berührung gekommen sind, kann angenommen werden, dass sie nur geringfügige Veränderungen erfahren haben. Lediglich Fette und freie Lipide dürften teilweise extrahiert worden sein.

M. BEHRENS

Physiologisch-chemisches Institut der Medizinischen Akademie der Justus-Liebig-Hochschule, Giessen, und Zoologische Station, Neapel, 25. Oktober 1954.

Summary

A new method to obtain cells and tissue ingredients almost unaltered is described. The tissue is emulsified in an indifferent oil in which process the different histological structures are separated into the different droplets. Separating similar droplets, it is possible to gain single cells and tissue components.

PRO EXPERIMENTIS

A new Method for Measuring Membrane Potentials with External Electrodes

The true value of membrane potentials of biological core conductors can only be measured with external electrodes if the flow of injury current between a normal and an injured or depolarised part of membrane can be prevented by

- (i) compensating the potential drop which is at the origin of current flow¹, or
- (ii) increasing the longitudinal resistance of the outer medium.

Current flow in the core and in the outer medium in fact reduces the true value of the membrane potential measured with external electrodes by the short-circuiting factor

$$\frac{r_1}{r_1 + r_2}$$

where r_1 and r_2 are longitudinal resistances of the external and internal medium per unit length respectively.

An increase of r_1 to much higher values than r_2 will therefore tend to increase the short circuiting factor to unity. The potential measured with external electrodes will thus approximate the true membrane potential of the uninjured membrane. These conditions can be realised by the following procedure:

A bundle of myelinated nerve fibers of a frog is introduced into a hole of slightly greater diameter through which an isotonic sucrose solution of at least $2 \times 10^6 \Omega$ cm specific resistance flows at constant rate. The inflow of sucrose is made in the middle of the hole and the outflowing sucrose is spilled away by RINGER or test solutions flowing through vertical channels at both ends of

¹ A. F. HUXLEY and R. STÄMPFLI, J. Physiol. 112, 476 (1951).

it (Fig. 1). The nerve fibers are bent upwards into the two channels, thus being in contact with the inflowing solutions. The resistance of the liquid in the vertical channels is very small. Each of them can be considered as equipotential. There is a sharp increase of longitudinal

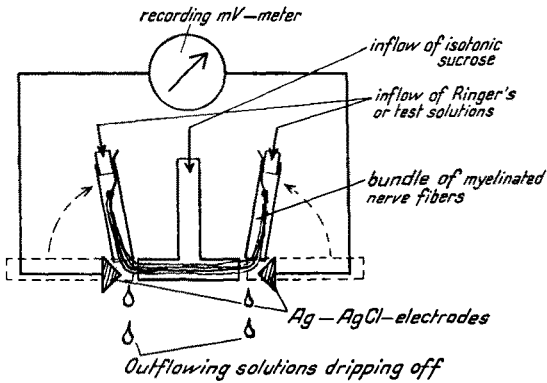


Fig. 1.—Arrangement of polyethylene tubes for recording membrane potentials. The nerve fibers are pulled across three tubes. The middle one is circulated with isotonic sucrose solution of high specific resistance, the outer ones with RINGER's solution on one side and RINGER's solution or test solutions on the other side. After introduction of the nerve fibers both tubes are moved into vertical position in order to have a sharp change of resistance at both ends of the middle section by spilling the sucrose solution away.

resistance at the entry of the horizontal hole. The potential difference between chlorided silver electrodes at the lower end of the channels, with RINGER's solution on one side and an isotonic KCl solution on the other, should therefore be equal to the resting potential of the fibers. Values of about 70 mV are obtained, in good agreement with the compensating method¹. The advantages of the new method are obvious: Bundles of nerve or muscle fibers, freed from connective tissue, can be used instead of single fibers. No particular skill is necessary and the arrangement is simple. The potential changes can easily be recorded and the time course of the action of ions or drugs affecting the membrane potential can be compared quantitatively (Fig. 2). Although it is not yet possible to measure action potentials by this procedure, these advantages appear to justify publication. The main difficulty is to make a sucrose solution of

high enough specific resistance. This can be done by using distilled water from an ion exchanger column for

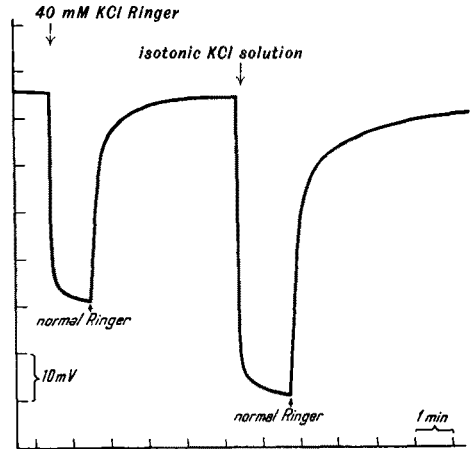


Fig. 2.—Example of the depressing action of K-rich solutions. 40 mM K-Ringer (left) depresses the membrane potential of a bundle of myelinated frog nerve fibers by at least 46 mV (equilibrium was not yet obtained when RINGER's was given again) and isotonic KCl-solution brings it down by at least 64 mV (same remark as above) x-axis = time in minutes, y-axis = millivolts. Note sharp decrease in potential at application of K-rich solutions and slower recovery after change to RINGER's. Complete recovery is regularly observed at small K-concentrations and frequently with isotonic or hypertonic K-solutions.

dilution or by circulating the diluted sucrose through an ion exchanger.

R. STÄMPFLI¹

Physiological Institutes of the University of Berne, Switzerland, and of the Saar-University, Homburg, Saarland, June 6, 1954.

Zusammenfassung

Beschreibung einer neuen Methode, die es gestattet, mit Aussenelektroden die wahre Grösse der Membranpotentialschwankungen, die durch den Einfluss von hyper- oder hypopolarisierenden Substanzen oder durch die Erregung in markhaltigen Nervenfasern erzeugt werden, zu registrieren.

¹ A. F. HUXLEY and R. STÄMPFLI, *J. Physiol.* 112, 476 (1951).

¹ Present address: Physiological Institute of the University of Saarland, Homburg, Saar.