

0.04%; for the non-treated sample: N = 0.50% and P = 0.05%.

When sealed in glass ampoules and stored at 4°C, the diluter could be used for about 3 weeks.

Our thanks are due to Dr. J. DE WAEL from the Laboratory for Veterinary Biochemistry, University of Utrecht, for advice and for the supervision of the electro-phoretical analysis.

R. RIKMENPOEL

Research Institute for Animal Husbandry T.N.O., Utrecht, October 25, 1956.

Zusammenfassung

Es wird eine Arbeitsmethode beschrieben zur Klärung einer isotonischen Zitratlösung mit 15% Eidotter: 1. Zentrifugieren in einer Ultra-Zentrifuge während einer Stunde bei 150 000 g; 2. Filtrieren durch Membranfilter in aufeinanderfolgenden Schritten.

PRO EXPERIMENTIS

Anwendung einer Silikonschicht zur leichteren Ablösung von Gewebskulturen bei Methacrylat-Einbettung

Für die Plasteinbettung von Gewebskulturen zur Herstellung von Schnitten in der Elektronenmikroskopie sind verschiedene Methoden beschrieben worden (BORYSKO und SAPRANAUSKAS¹, PALADE und PORTER²).

Die im folgenden beschriebene Methode erleichtert das Ablösen der plasteingegebeneten Kulturen von den Gläsern, indem auf Deckgläsern oder in «Roller-tubes», die mit einer dünnen Silikonschicht ausgekleidet sind, gezüchtet wird. Die Glasflächen werden mit Äther entfettet und danach mit Bichromatschwefelsäure gereinigt. Nach sorgfältigem Abspülen in destilliertem Wasser und Trocknen werden sie mit einer Silikonlösung³ bestrichen, welche in Wasser, Alkohol und *n*-Butylmethacrylat unlöslich sein muss. Weiterhin ist für die trockene Sterilisation eine Wärmebeständigkeit bis 160°C erforderlich.

Ein kleiner Tropfen Silikonlösung wird mit einem Glasstab auf die zu behandelnde Fläche aufgebracht. Mit einem Wildlederläppchen wird er so über das Glas verteilt, dass dieses zum Schluss mit einer dünnen Silikonschicht überzogen ist. Die richtige Dicke des Silikons ist erreicht, wenn ein von der Oberfläche abgesaugter Wassertropfen noch eine dünne Wasserschicht zurücklässt.

Gewebszüchtung auf Deckgläsern nach der Methode des «liegenden Tropfens»: Nach erfolgter Zellproliferation werden die Kulturen mit einer 1%igen OsO₄-Lösung fixiert. Danach werden die Präparate mit Wasser abgespült, in 70%igem, 90%igem und absolutem Alkohol entwässert und schliesslich mit *n*-Butylmethacrylat⁴

imprägniert. Die Einbettung in Plast mit Katalysator wird in silikonbehandelten Lochgläsern vorgenommen. Nach Polymerisation bei 45°C werden die Deckgläser mit einer dünnen Rasierklinge vom Plast gelöst. Falls Schwierigkeiten auftreten, werden die Präparate für einige Minuten abgekühlt⁵.

Gewebszüchtung in silikonbehandelten «Roller-tubes»: Die ausgewachsenen Kulturen werden fixiert, entwässert und in den Rohren eingebettet. Nach der Polymerisation werden diese zerschlagen und das Plast mit den eingebetteten Kulturen vom Glas gelöst, worauf die Präparate geschnitten werden können.

Untersuchung von Herzfibroblasten 7 Tage alter Hühnerembryonen mit dem Phasenkontrastmikroskop ergab, dass die Proliferation in Kulturen auf Deckgläsern mit und ohne Silikonbehandlung gleich gut erfolgte. Eine toxische Wirkung der Silikonschicht war nicht festzustellen. Zwischen Zellen, die auf silikonbehandelten, und solchen, die auf unbehandelten Gläsern gewachsen waren, konnte kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Weitere Untersuchungen über eine mögliche Beeinflussung der Zellen durch die Silikonschicht sind noch im Gange⁶.

K. E. HELLSTRÖM und O. NILSSON

Histologische Abteilung des Karolinska Institutes, Stockholm, Schweden, den 15. September 1956.

Summary

The method proposed can be used for plast embedding of cover-slip and roller-tube cultures. The glass surface is coated with a thin silicone film to facilitate the removal of the plast. The silicone does not seem to disturb the growing cells.

⁵ K. E. HELLSTRÖM, in Vorbereitung.

Atmungshemmung und Karzinogenese

Nach Versuchen von NIEPER und DRUCKREY¹ gelingt es bei Ratten nicht, mit Janusgrün Krebs zu erzeugen, obwohl doch, wie die Autoren hervorheben, Janusgrün die Atmung hemmt. In diesem Zusammenhang möchte ich darauf hinweisen, dass nicht jede Atmungshemmung karzinogen ist, wie das Beispiel der Blausäure lehrt. Karzinogen ist eine Atmungshemmung nur dann, wenn die Atmungshemmung nach Entfernung der atmungshemmenden Substanz bestehen bleibt; wenn die Atmungshemmung auch bei allen folgenden Zellteilungen bestehen bleibt; wenn die atmungshemmende Substanz die Gärung nicht hemmt; und wenn die atmungshemmende Substanz die Zellteilung nicht hemmt. Der Erfahrungssatz (von dem es keine Ausnahme gibt) «keine Krebszelle ohne geschädigte Atmung» darf also nicht umgekehrt werden in den Satz «keine Atmungshemmung ohne Krebsentstehung». Glücklicherweise gibt es sehr viele Hemmungen und Schädigungen der Atmung, die nicht karzinogen sind.

O. WARBURG

Max-Planck-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem, den 2. Februar 1957.

¹ B. BORYSKO und P. SAPRANAUSKAS, Bull. Johns Hopkins Hosp. 95, 68 (1954).

² G. E. PALADE und K. R. PORTER, J. exper. Med. 100, 641 (1954).

³ DRI-FILM 9987, General Electric Company, New York.

⁴ S. B. NEWMAN, E. BORYSKO und M. SWERDLOW, J. appl. Phys. 22, 114 (1951).

⁵ Exper. 13, 40 (1957).