

tensity was strongest in more superficially localized cells. Some cells showing a strong fluorescence seemed to lack radioactivity and vice versa. The formation of 5-HT thus seemed to be more rapid in young cells located at the bottom of the crypts and then to decrease continuously during the cell migration towards the gastric lumen. The silver grains as well as the fluorescence were located exclusively to the cytoplasm.

HEMPEL¹⁴ recently found a higher uptake of radioactivity in similar gastric cells of mice injected with ³H-dihydroxyphenylalanine (³H-DOPA) than in the duodenal enterochromaffin cells. This indicates that this amine precursor is also taken up more rapidly by the gastric cells.

The rat is known almost to lack enterochromaffin cells in the stomach¹⁵, indicating a species difference. We recently found (unpublished) that ³H-DOPA accumulates in scattered cells of rat gastric mucosa in spite of the hardly noticeable fluorescence. This indicates that there is no species difference as far as cell metabolism is concerned, only with regard to storage capacity of the cells involved.

In the muscular layers of the gastric and duodenal wall a strong accumulation of radioactivity was observed in elongated structures, possibly nerves. A less strong accumulation of radioactivity could be seen in the myenteric plexa. GERSHON et al.¹⁶ have recently reported an uptake of labelled 5-HTP in these ganglia. The localization of a serotonin precursor in the muscular layers of the gastro-

intestinal tract is of interest when considering the fact that injected serotonin causes contraction of the gastrointestinal wall¹⁷.

Zusammenfassung. Histologische Magen- und Duodenumschnitte der Maus wurden zur gleichzeitigen Lokalisierung biogener Amine und autoradiographischem Nachweis von injiziertem ³H-5-HTP benutzt. Die Radioaktivität war in den enterochromaffinen Zellen lokalisiert und in den Zellen der Magenschleimhaut am höchsten. Fluoreszenz-Intensität und Silberkörnchen-Akkumulation zeigten ein entgegengesetztes Verhalten.

L. HAMMARSTRÖM, M. RITZÉN,
and S. ULLBERG

*Department of Pharmacology, Royal Veterinary College
and Institute for Cell Research, Karolinska Institutet,
Stockholm (Sweden), October 6, 1965.*

¹⁴ K. HEMPEL, Verh. dt. Ges. Path. 47, 286 (1963).

¹⁵ W. JACOBSON, J. Path. Bact. 49, 1 (1939).

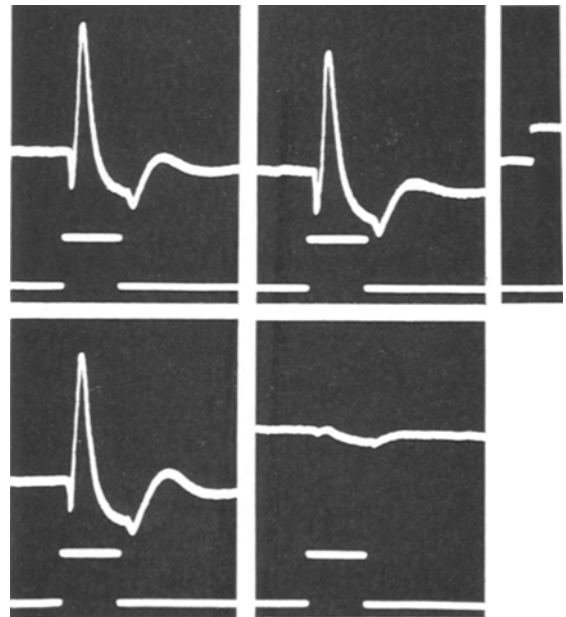
¹⁶ M. D. GERSHON, A. B. DRAKONTIDES, and L. L. ROSS, Science 149, 197 (1965).

¹⁷ This work has been supported by grants from the Swedish Medical Research Council Grant No. 12X-713-01 and from Knut och Alice Wallenbergs Stiftelse.

Die Bedeutung von Plasmafaktoren für die isolierte umströmte Kaninchennetzhaut

Die isolierte Warmblüternetzhaut antwortet auf Lichtreize mit einem kompletten Elektroretinogramm (ERG), wenn sie mit einer plasmahaltigen Lösung umströmt wird¹. Auch die isolierte Kaninchennetzhaut ist mit menschlichem Plasma überlebend zu halten². Auf der Suche nach den wirksamen Faktoren wurden Plasma-derivate verschiedener Species geprüft.

Die früher angegebene Methodik^{2,3} wurde modifiziert, indem zur Umströmung eine Mikropumpe (Bühler) benutzt wurde, wobei über zwei Doppelhahnssysteme verschiedene Lösungen wahlweise über das Präparat oder über einen Kurzschluss geleitet werden konnten. Als Kontrolle diente das schon in einer früheren Untersuchung³ verwendete Gemisch von modifizierter Tyrodelösung und antihämophilem Humanplasma (AHP) des Österreichischen Instituts für Hämoderivate; damit wurde bei einwandfrei präparierten Kaninchennetzhäuten bei 30°C ein ERG erhalten, das aus *a*-, *b*- und *d*-Welle bestand. Die Wirksamkeit anderer Lösungen konnte durch direkten Vergleich mit dieser Standardlösung ge-



ERG der isolierten umströmten Kaninchennetzhaut bei 30°C. Umströmung mit Tyrodelösung bei Zusatz von 50%: Pferdeplasma (links oben), ultrafiltriertem Pferdeplasma (rechts oben), ultrafiltriertem Pferdeplasma nach 5 min Erhitzen auf 90°C (links unten), Schweineplasma (rechts unten). Eichung: 0,1 mV. Reizintensität 0,06 lx, Reizdauer 1 sec.

¹ W. SICKEL, H. G. LIPPMANN, W. HASCHKE und CH. BAUMANN, Deutsche Ophthal. Ges. 63, 316 (1961).

² RENATE HANITZSCH und H. BORNSCHEIN, Experientia 21, 484 (1965).

³ H. BORNSCHEIN, RENATE HANITZSCH und ASTRID V. LÜTZOW, Experientia 22, 98 (1966).

testet werden. Die Versuche wurden bei 84 Kaninchen-netzhäuten durchgeführt.

Da der Gedanke naheliegt, dass es sich bei den Plasma-faktoren um Proteine handelt, wurden verschiedene Plasmaeiweissfraktionen geprüft (Alkoholfractionierung nach KISTLER-NITSCHMANN⁴: Präcipitate IV, D und B, Albumin- und γ -Globulinfraktion). Mit keiner Fraktion gelang es, eine deutliche *b*-Welle zu erhalten. Hingegen blieb die Wirkung des AHP nach Ultrafiltration erhalten (LKB 6300 A, mittlerer Porenradius 24 Å). Damit konnte das Plasma-Eiweiss als wirksamer Faktor ausgeschlossen werden. Durch 10 min Erhitzen des Ultrafiltrats auf 100°C wurde die Amplitude der *b*-Welle um ein Drittel verkleinert.

Unter den üblichen Bedingungen gewonnenes Plasma und Serum verschiedener Grosstiere (Rind, Pferd, Schwein, Schaf) erwies sich zunächst als wirkungslos. Kontrollversuche ergaben, dass auch Kaninchen- und menschliches Plasma nur dann voll wirksam sind, wenn das Blut unmittelbar nach der Abnahme gekühlt und in der Kühlzentrifuge verarbeitet wird, wie dies beim AHP der Fall war. Von dem unter analogen Bedingungen gewonnenen Plasma anderer Tierarten war das Pferdeplasma in seiner Wirkung auf die isolierte Kaninchen-netzhaut dem Kaninchen- bzw. dem menschlichen Plasma gleichwertig, während das ERG mit Schweine- oder Rinderplasma nicht oder nur über kurze Zeit erhalten wurde; der wirksame Faktor des Pferdeplasmas fand sich auch im Ultrafiltrat und erwies sich bei 30 min Erwärmung auf 60°C bzw. 5 min Erwärmung auf 90°C als thermostabil (Figur).

Um Störungen durch Fibrinausfällung zu vermeiden, kann das Plasma durch Thrombinzusatz (Topostasin Roche) nachträglich defibriniert werden. Versuche mit

ungekühltem Plasma sowie mit Serum, das durch Spon-tangerinnung bei 4°C gewonnen wurde, ergaben Anhalts-punkte für das Auftreten toxischer Substanzen, die eben-falls ultrafiltrierbar sind und in kurzer Zeit das ERG (einschliesslich der negativen Komponente P III) irrever-sibel auslöschen können.

Die vorliegenden Ergebnisse sind ein Beitrag zur Methodik der isolierten umströmten Warmblüternetz-haut, die gegenüber dem Ganztierversuch eine Reihe von Vorteilen bietet³. Weitere Untersuchungen haben eine Isolierung und Identifizierung der niedermolekularen und hitzebeständigen Faktoren zum Ziel, die eine unbedingte Voraussetzung für das Überleben der *b*-Welle in der iso-lierten umströmten Kaninchen-netzhaut bilden⁵.

Summary. The *b*-wave in the electroretinogram of the isolated retina of the rabbit can be completely preserved by addition of plasma to the perfusing fluid. The plasma factor is a non-protein (heat-stable, molecular size < 24 Å), and was found in the plasma of rabbit, man, and horse.

ASTRID V. LÜTZOW

*Institut für Allgemeine und Vergleichende Physiologie und
Physiologisches Institut der Universität Wien
(Österreich), 24. Januar 1966.*

⁴ P. KISTLER und Hs. NITSCHMANN, Vox Sang. 7, 414 (1962).

⁵ Das verwendete AHP sowie die Plasmafraktionen wurden freund-licherweise vom Österreichischen Institut für Hämoderivate sowie von Herrn Dr. W. DOLESCHEL zur Verfügung gestellt, wofür an dieser Stelle gedankt sei.

Osmotic Remedial and Osmotic Sensitive Mutants of *Schizosaccharomyces pombe*

In a previous publication I described three mutants of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* which require high concentrations of potassium for growth¹. Further investigations of these strains showed that their muta-tional defect could also be corrected by growing them on media containing high concentrations of glycerol or glu-cose. In order to show that this effect is not restricted to a specific gene, an attempt was made to isolate additional mutants exhibiting the same property. HAWTHORNE and FRIIS² recently published a report in which they de-scribed analogous mutants in *Saccharomyces* which they called osmotic remedial. In the present communication the growth behaviour of osmotic remedial mutants of *S. pombe* will be reported. In addition, evidence for the existence of a new class of mutants, called osmotic sensi-tive, in *S. pombe* will be presented.

Material and methods. The strains of *S. pombe* used in this study were the wild type 975, the mutant 972-G-4¹, an arginine requiring mutant 975-NG-24 and an adenine requiring mutant 975-NG-111 both of which were induced by 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (NG) and isolated by the 2-deoxyglucose method³. The NG-induced, os-motic-sensitive mutant 975-OS-5 was isolated from a mutagenized suspension of wild type cells which were

first plated on YEG medium⁴ and replica plated on syn-thetic minimal⁴ plates supplemented with 20% (v/v) glycerol on which osmotic-sensitive mutants are strongly inhibited in growth. The growth of the cells was followed by measuring the optical densities of 6 ml suspensions in metal-capped test tubes shaken at 30°C, with a Lumetron colorimeter equipped with filter 650. Exponential genera-tion times were determined from semilog plots of the time-course of the optical densities.

Results. The effect of added glycerol and glucose to the synthetic minimal medium on the growth of the osmotic remedial mutant 972-G-4 is shown in Figure 1. The growth of the cells in glycerol or glucose containing media starts after a relatively long lag period and proceeds ex-pentially at a rate comparable to that of the wild type in synthetic minimal medium. An increase in the osmo-larity of the medium resulted in a decrease of the lag period. Tests were also made to determine the growth factor requirement of this mutant. However, none of the standard amino acids, vitamins, purines and pyrimidines used in these tests fulfilled its requirement either singly or in combination.

¹ R. MEGNET, Experientia 20, 638 (1964).

² D. C. HAWTHORNE and J. FRIIS, Genetics 50, 829 (1964).

³ R. MEGNET, Mutation Res. 2, 328 (1965).

⁴ R. MEGNET, Arch. Klaus-Stift. Vererb. Forsch. 33, 299 (1959).