

Fig. 2. Parabiotic pair after separation. Suture lines outlined in ink for contrast.



Fig. 3. Healed pair. Graft outlined in ink.

principle but differing in detail. They, however, reported high mortality rates despite extensive postoperative care. In our view this is due to the fact that parabiosis and skin grafting were carried out simultaneously, thereby increasing surgical trauma and necessitating muscle to muscle parabiosis. In the method described above, surgical trauma in the parabiotic step is minimized and graft healing can take place unencumbered by a parabiont. We also found the use of massive doses of antibiotics essential for success. With the method described above, post-operative mortalities are negligible^{6,7}.

Zusammenfassung. Eine Methode zur Ausführung ausgedehnter Hauttransplantationen bei Ratten, die einer

vorübergehenden Parabiose unterworfen wurden, wird beschrieben. Die Methode soll zur Untersuchung von Altersveränderungen der Haut benutzt werden.

T. J. MENDE

Department of Biochemistry, University of Miami (Florida USA), November 19, 1965.

⁶ The excellent assistance of Mr. A. LATORRE and Mr. L. VIAMONTE is gratefully acknowledged.

⁷ Supported by Grant HD-00670-05 from the United States Public Health Service.

Schnelles Einfrieren von Geweben und Flüssigkeiten

Beim langsamem Einfrieren von Geweben und Flüssigkeiten (wie zum Beispiel Blut) können durch die Bildung grösserer Eiskristalle morphologische Veränderungen und Substanzverschiebungen eintreten. Daher ist für die Zellen- und Gewebetrennung sowie gewisse Fragen der Histochemie ein schnelles Einfrieren von grosser Bedeutung.

Dem schnellen Einfrieren stehen zwei physikalische Eigenschaften der Materie entgegen: Bereits gefrorene Organteile sind schlechte Wärmeleiter, so dass trotz Anwendung tiefster Temperaturen ein schnelles Durchfrieren nicht ohne besondere Massnahmen zu erreichen ist. Weiterhin wird ein schnelles Einfrieren durch das Leidenfrost-sche Phänomen behindert. Bei der Herstellung histologischer Präparate umgeht man diese Schwierigkeiten, indem man ausserordentlich kleine Objekte in zuvor

tiefgekühlten Flüssigkeiten, die keine Gasentwicklung zeigen, einfriert.

1952 wurde von uns¹ eine Methode angegeben, die es gestattet, grössere Gewebemengen relativ schnell einzufrieren. Dabei werden kleinere Organstücke gemeinsam mit fester Kohlensäure in einem Starmix gemahlen. 1964 veröffentlichten MOLINE und GLENNER² eine Methode, bei welcher die Einfriergeschwindigkeit für kleinere Organstücke 10–20 sec beträgt. Mit Hilfe eines von uns entwickelten Einfriergerätes, das nachfolgend beschrieben wird, können Gewebe im Bruchteil einer Sekunde eingefroren werden.

Es ist bekannt, dass man Gewebe relativ schnell einfrieren kann, wenn man sie zwischen zwei tiefgekühlten

¹ M. BEHRENS, Hoppe-Seyler's Z. 291, 245-246 (1952).

² S. W. MOLINE und G. G. GLENNER, J. Histochem. Cytochem. 12, 777 (1964).

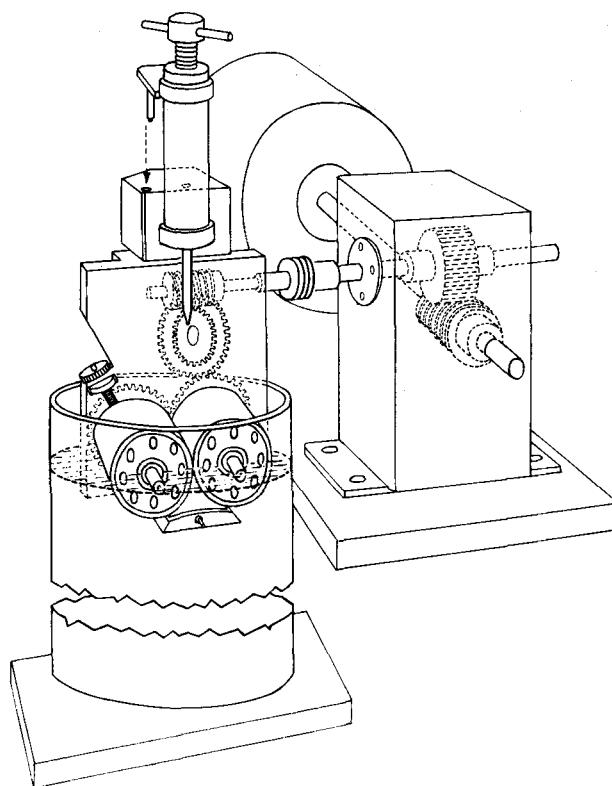
Metallblöcke presst. Das von uns entwickelte Gerät (Figur) gestattet es, diesen Vorgang kontinuierlich zu gestalten. Dabei wird das Gewebe zwischen zwei tiefgekühlte Metallwalzen (ca. -190 °C) durchgedreht und

fällt unmittelbar in das Kältemittel. Die Walzen tauchen zur Hälfte in flüssigen Stickstoff ein; Längsbohrungen sorgen für eine intensive Kühlung. Durch Anbringen von Blenden an den beiden Enden der Bohrungen (in der Figur nicht eingezzeichnet) wird der Stickstoff bei der Rotation der Walzen mit nach oben genommen. Dadurch werden auch die jeweils aus dem Stickstoff herausragenden Teile der Walzen ständig gekühlt. Der Abstand der Walzen kann zwischen 0 und 1 mm variiert werden, ihr Durchmesser beträgt 4 cm, ihre Umlaufgeschwindigkeit 1 Umdrehung in 5 sec. Sie werden von einem Elektromotor (1,5 PS) über zwei Schneckengetriebe angetrieben. Das grob vorzerkleinerte Gewebe wird durch eine Metallspritze, deren Stempel durch eine Schraube bewegt wird, in den Spalt zwischen die Walzen eingebracht. Die Spritze mündet in ein kurzes Rohr von 5 mm innerem Durchmesser, dessen Ende flachgedrückt und dadurch dem Spalt zwischen den Walzen gut angepasst ist; es hat ca. 1 mm Abstand von dem Spalt. Durch eine geeignete Halterung lässt sich die Spritze leicht entfernen und wieder in die vorgesehene Lage bringen. Da das Material in dünnen Platten anfällt und sich somit durch eine grosse Oberfläche auszeichnet, wird auch die Gefriertrocknung begünstigt³.

Summary. A new unit for rapid freezing of tissues and liquids in liquid nitrogen is described.

M. BEHRENS, W. NEU
und R. THALACKER

Abteilung für Zell- und Gewebechemie am Physiologisch-chemischen Institut der Justus Liebig-Universität,
Giessen (Deutschland), 8. November 1965.



Gerät zum schnellen Einfrieren von Geweben. Die Frontplatte des Walzwerkes ist wegen der besseren Übersicht weggelassen. Nähere Erläuterungen im Text.

³ Dem Verband der Chemischen Industrie und der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Bereitstellung der Mittel.

A New Method of Multiple Grafting of Endocrine Glands into the IVth Ventricle of the Chick Embryo

The various methods designed for grafting tissues into the chick embryo have their inherent limitations. For instance, grafting onto the chorio-allantoic membrane on the 5th-6th day of incubation is technically possible only for one small implant, on the 8th-9th day for *multiple* grafts of a larger size, but in the latter case the time remaining until recovery is rather short.

HAMBURGER's method^{1,2} of intracoelomic grafting onto the abdominal wall of the 60-100 h old embryo, has the disadvantage that the size and number of the implants are limited by the small capacity of the coelomic cavity at this age. A similar limitation holds for the intraocular grafting designed by MAY and THILLARD³. After intracoelomic grafting as introduced by DOSSEL⁴, the implants often fuse with various organs such as liver, mesonephros, mesenteries and intestines, which hampers recovery.

While studying the influence of embryonic pituitaries on the gonads of the chick embryo, the author⁵ found that modifications brought about by older pituitaries could be effected by younger ones only when the number of implanted glands was increased. As, however, no satisfactory method was available for implantation of as many pieces as six, a new method was developed. For implantation the IVth ventricle is utilized of the 4-5 days old chick embryo, which constitutes a large cavity with an easily accessible and scarcely vascularized roof. The method appears to have sufficient applicability to be of interest to workers in other fields of research.

¹ V. HAMBURGER, J. exp. Zool. 77, 379 (1938).

² V. HAMBURGER, J. exp. Zool. 80, 347 (1939).

³ R. M. MAY and M.-J. THILLARD, C. r. Ass. Anat. 44, 488 (1957).

⁴ W. E. DOSSEL, Science 120, 262 (1954).

⁵ M. M. GROENENDIJK-HUIJBERS, Anat. Rec. 136, 202 (1960).