

reported in *Vicia faba* primary roots<sup>10</sup>, and in synchronized cells of cultured human carcinoma<sup>11</sup>. In both studies<sup>10,11</sup> grain counts were measured against time rather than against DNA contents.

It is unlikely that grain-count variations of the type reported can be accounted for by errors in methodology or statistical variation due to radioactive decay<sup>7</sup>. An alternative explanation is necessary. Dependence of cell-to-cell variation in rates of S on chromosome replication patterns in individual nuclei has been discussed in detail<sup>7</sup>. It may not be necessary, however, to invoke an explanation based on random varying rates. Although DENDY and CLEAVER<sup>9</sup> have concluded that in experiments of this type metabolic pool size is of minor significance, it merits some attention. Variation in precursor pool size, resulting in variable degrees of dilution of the incorporated label, would result in a non-linear relation between grain counts and rates of synthesis during the pulse-labeling period. CRADDOCK and NAKAI<sup>12</sup> have suggested that the rate of incorporation of thymidine should not be considered as a measure of DNA synthesis, but as a reflection of the extent of intracellular pools of DNA precursors, and the activities of phosphorylating kinases and DNA polymerase. Grain count variation may reflect the rate of filling the pool and the concentration of radio-active thymidine finally reached in it.

Data of the kind reported here and by other workers can be made to fit a general concept of DNA synthesis. However, such manipulation conceals information regarding individual cells, and clouds the interpretation of mechanisms controlling synthesis. When DNA content

alone is used for determination of DNA synthetic activity, the rate appears to be relatively constant, but with labeled cells the rate is not constant, and it varies from cell to cell. The assumption that there are equal increments of DNA/unit time of synthesis for all cells in a population is unfounded<sup>13</sup>.

**Zusammenfassung.** In vitro gezüchtete Hühnerembryozellen werden mit <sup>3</sup>H-Thymidin oder <sup>14</sup>C-Thymidin «pulse-labeled», wobei «grain counts» und DNS-Gehalt in individuellen Zellen gemessen werden. Für keine der beiden Isotopen wurde eine Beziehung zwischen DNS-Gehalt und «grain count» gefunden, woraus folgt, dass die Geschwindigkeit der DNS-Synthese von Zelle zu Zelle variiert.

N. S. COHN

Department of Botany, Ohio University,  
Athens (Ohio 45701, USA),  
26 February 1968.

<sup>10</sup> A. HOWARD and D. L. DEWEY, *Expl Cell Res.* 24, 623 (1961).

<sup>11</sup> F. H. KASTEN and F. F. STRASSER, *Nature* 211, 135 (1966).

<sup>12</sup> C. G. CRADDOCK and G. S. NAKAI, *J. clin. Invest.* 41, 360 (1962).

<sup>13</sup> The author expresses his appreciation to Prof. P. VAN DUYN for valuable discussions and for the use of laboratory facilities at the University of Leiden, The Netherlands, where these studies were initiated.

## Beitrag zur Frage der Entstehung mehrkerniger Zellen

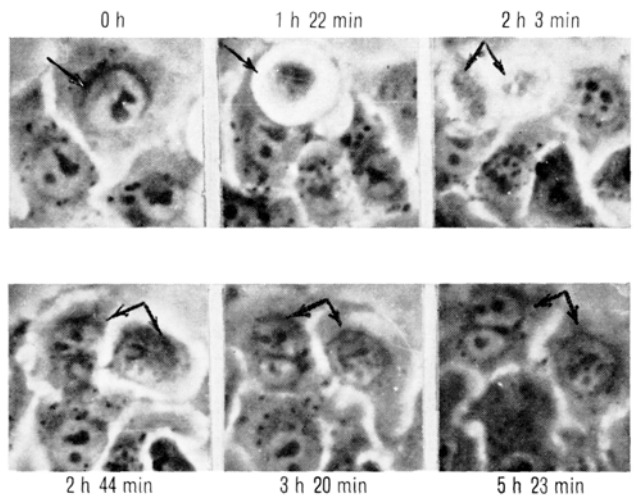
Vor einiger Zeit haben wir die Bildung zweier mehrkerniger Zellen aus einer Mutterzelle ohne experimentellen Eingriff beschrieben<sup>1</sup>. Bei der hier beschriebenen Beobachtung haben wir eine unbeeinflusste HeLa-Zellkultur mit dem Zeitrafferfilm festgehalten und dabei festgestellt, dass aus einer durch normale Mitose sich teilenden einkernigen Zelle eine einkernige und eine zweikernige Tochterzelle entstanden sind. Der Entstehungsablauf dieser unterschiedlichen Tochterzellen ist auf einer Serie von Mikrophotographien mit dem 35 mm-Kinofilm festgehalten (Figur). Es sind nur die zur Demonstration des erwähnten Prozesses notwendigen Stadien angeführt. Die Zeiten sind auf die mit Null bezeichnete Aufnahme bezogen.

Auf der ersten Teil-Mikrophotographie (0 h) ist die verfolgte Zelle durch einen Pfeil bezeichnet. Auf der zweiten Photographie befindet sich dieselbe Zelle in Mitose. Nach 2 h 3 min ist die Teilung in 2 Tochterzellen festzustellen. Auf einer weiteren Aufnahme ist die Rekonstruktionsphase (2 h 44 min) festgehalten, die jedoch kurze Zeit später zu Ende sein wird. Das Ergebnis der Rekonstruktion ist auf einem weitem Bild festgehalten (3 h 20 min). Man kann beobachten, dass die linke Tochterzelle 2 dicht aneinanderliegende Kerne enthält, deren Gesamtfläche nur wenig grösser ist als die Fläche des Kerns der rechten Tochterzelle. Die zweikernige Zelle lebt längere Zeit, ohne sich zu teilen oder zu degenerieren. Nur die Kerne der zweikernigen Zelle rücken etwas auseinander, wie aus unserer letzten Photographie zu ersehen ist, und zwar nach 5 h 23 min vom Anfang der Beobachtung gerechnet.

Obwohl die Ursachen und Folgen dieses Prozesses verhältnismässig schwierig zu erklären sind, zeigt unsere Beobachtung eine der Bildungsarten mehrkerniger Zellen. Ein ähnlicher Befund wurde von SCHLEICH und MAYER<sup>2</sup>

<sup>1</sup> V. PŮŽA, *Experientia* 19, 529 (1963).

<sup>2</sup> A. SCHLEICH und A. MAYER, *Z. Krebsforsch.* 60, 47 (1954).



mit dem Zeitrafferfilm nach 24stündiger Einwirkung von Adrenalin auf Fibroblastenkulturen festgehalten. Auch unsere Beobachtung war leider bereits zu Ende gewesen, als es zur Teilung der entstandenen Zellen gekommen ist. FALKE und RICHTER<sup>3</sup> hatten jedoch Gelegenheit, den Teilungsablauf einer dreikernigen Zelle in 3 normale Zellen mit dem Film festzuhalten. In jüngster Zeit haben OFTEBRO und WOLF<sup>4</sup> eine ganze Reihe von solchen Fällen analysiert und den verlängerten Mitoseablauf beschrieben. Diese ernsthaften Störungen der mitotischen Teilung scheinen daher für das weitere Zelleben nicht von so grosser Bedeutung zu sein, wie es auf den ersten Blick erscheint. Es wäre sehr interessant, die Chromosomenzahl dieser Zellen festzustellen. Leider ist dies weder in unserer Beobachtung noch in den zitierten Arbeiten gelungen.

**Summary.** The author describes the origin of 2 daughter cells of HeLa cellular line: one double nuclear and the

other single nuclear cell. Both cells originated by the mitotic division of the single nuclear mother cell without any artificial treatment. The observation is documented by the series of partial photographs of the time-lapse cine-film.

V. PŮŽA

*Institut für allgemeine Biologie der Medizinischen Fakultät der Karlsuniversität, Hradec Králové (Tschechoslowakei), 11. März 1968.*

<sup>3</sup> D. FALKE und I. E. RICHTER, *Naturwissenschaften* 46, 487 (1961).

<sup>4</sup> R. OFTEBRO und I. WOLF, *Expl Cell Res.* 48, 39 (1967).

## L'aorte de l'embryon de poulet: histogénèse, cultures organotypiques, stimulations expérimentales<sup>1</sup>

Dans 2 notes précédentes publiées dans cette revue<sup>2,3</sup>, nous avons communiqué les résultats d'études portant sur quelques artères de type musculaire et de type élastique, d'embryon de poulet explantées in vitro.

Les premières recherches nous ont démontré que les 2 types d'artères se comportent différemment lors de l'explantation, et que la réponse qu'elles donnent à certaines stimulations (présence de 1 ou 2 corps étrangers dans la lumière) est également différente. Ces résultats nous ont incité à poursuivre l'étude des vaisseaux sanguins de l'embryon de poulet sur une artère qui, par sa structure, n'est pas comme les autres: l'aorte en effet est de type élastique dans sa moitié crâniale, de type musculaire dans la partie caudale.

On a suivi les étapes morphogénétiques du vaisseau sur une vingtaine d'embryons, dont l'âge varie entre 45 h et 21 jours, et sur 3 poussins de 3, 10 et 30 jours. Le prélèvement de l'aorte par dissection, chez les embryons plus jeunes de 10 jours, n'est pas aisé et on risque souvent d'abîmer la paroi; jusqu'à cet âge, l'aorte a été étudiée sur des embryons entiers coupés en séries. A partir du 12<sup>e</sup> jour, on a prélevé l'aorte des embryons et on l'a divisée ensuite en 3-4 fragments, pour chacun desquels on a fait des coupes microscopiques à différents niveaux. En opérant de la sorte, même l'aorte des embryons plus âgés a été observée sur des coupes sériées sur toute sa longueur. Les coupes ont été colorées avec les méthodes histologiques habituelles et avec les techniques pour la mise en évidence du collagène et du matériel élastique.

Le microscope nous a montré les faits suivants: chez des embryons de 2-3 jours, la paroi aortique est formée seulement par une lame endothéliale. Dès le 4<sup>e</sup> jour, le tissu mésenchymatique environnant se condense autour de l'endothélium, un peu plus tôt et un peu plus abondamment, il s'organise au niveau de la moitié caudale du vaisseau. Le mésenchyme péri-endothélial augmente parallèlement au développement de l'embryon et, vers le 7<sup>e</sup> jour déjà, les 2 parties de l'aorte présentent une morphologie quelque peu différente qui va s'accroître par la suite: les éléments mésenchymatiques de la moitié caudale se différencient et acquièrent peu à peu les caractères d'éléments musculaires; dans la moitié crâniale, la différenciation musculaire est plus tardive. Des fibres élastiques minces apparaissent dans l'aorte vers le 8<sup>e</sup> jour; elles augmentent d'une manière importante au niveau de

la toute première partie de la paroi, sensiblement moins dans les segments thoracique et abdominal. Au 12<sup>e</sup> jour, la morphologie définitive est acquise et elle se maintiendra jusqu'à l'éclosion et aussi après la naissance. Dans la moitié crâniale, un nombre considérable de lames élastiques occupent l'épaisseur de la media; entre elles se trouvent de nombreuses cellules conjonctives d'aspect juvénile, une substance fondamentale acqueuse peu colorable, quelques fibrilles collagènes. En descendant vers le segment caudal, la structure se modifie; le changement de la morphologie est graduel et peut être localisé topographiquement environ au point de départ de l'artère mésentérique. Au-dessous de celle-ci, l'épaisseur de la paroi se réduit de la moitié environ, les fibres élastiques sont beaucoup moins nombreuses, plus minces, plus raréfiées. L'aspect de la media est à mi-chemin entre celui d'une artère élastique et d'une artère musculaire; il est superposable à celui de la media des artères musculaires de l'homme en âge avancé (matériel élastique assez abondant caractérisant la sénescence physiologique). Après le 12<sup>e</sup> jour, la morphologie ne varie plus; seule la quantité des différents composants morphologiques de la paroi augmente: la moitié crâniale se caractérise surtout par une lumière relativement étroite et une paroi très épaisse; la moitié caudale est marquée par une lumière relativement grande, une paroi mince et peu consistante comportant un nombre assez important d'éléments musculaires et quelques fibres élastiques éparses.

D'après les données morphologiques sus-décrites, il ressort que l'aorte de l'embryon de poulet et aussi du poussin n'a ni entièrement la morphologie, ni évidemment la fonction d'un véritable «canal élastique», tel qu'il existe habituellement tout le long de l'aorte chez les autres vertébrés; la fonction de canal élastique est remplie, chez le poulet, seulement par la toute première portion du vaisseau.

Le segment crânial élastique et la portion caudale musculaire de l'aorte ont été explantés in vitro séparé-

<sup>1</sup> Ces recherches ont été faites grâce à un subside du Fonds National Suisse de la Recherche scientifique et de la Fondation E. Barell de la Maison Hoffmann-La Roche SA, Bâle.

<sup>2</sup> G. CONTI, B. CAPPELLI et J. P. MUSY, *Experientia* 24, 591 (1968).

<sup>3</sup> G. CONTI, B. CAPPELLI et J. P. MUSY, *Experientia* 24, 710 (1968).