

apertures less than 0.1 mm in diameter would be technically difficult. Since the UV-transmitting objective is mounted in a rotating nosepiece and the choice of condensers is optional, there is no necessity of moving the specimen to another microscope for observation with other types of optics, and the instrument can be used for routine purposes when partial cell irradiation experiments are not in progress¹⁶.

laire et un objectif achromatique aussi bien à la lumière UV qu'à la lumière visible.

R. C. RUSTAD

*Departments of Radiology and Biology,
Case Western Reserve University,
Cleveland (Ohio 44106, USA), 28 February 1968.*

Résumé. On peut irradier les régions sous-cellulaires si la radiation UV d'un monochromateur est limitée par les ouvertures interchangeables de champ dans le plan de la pellicule photographique d'un appareil reflex, monté sur un microscope. L'image UV est démagnifiée par un ocu-

¹⁶ Acknowledgments. This work was supported by contracts No. AT-(40-1)-2730 and No. W-31-109-ENG-78, Report No. COO-78-172, with the U.S. Atomic Energy Commission. The first instrument was assembled in 1962 while the author was affiliated with the Department of Biological Sciences, Florida State University.

Elektrische Eigenschaften von Glasmikroelektroden nach Membranpotentialmessungen an Zellkulturen

Glasmikroelektroden nach LING und GERARD¹ zur intrazellulären Membranpotentialmessung haben die unerwünschte Eigenschaft, an ihrer Spitze elektrische Potentiale, sogenannte «tip-potentials» zu bilden. ADRIAN² und KÜCHLER³ messen am isolierten Froschskelettmuskel um so kleinere Membranruhepotentiale, je negativer das «tip-potential» der Elektrode ist. Über spezifisch verursachte Änderungen des Elektrodenwiderstandes und des «tip-potentials», wie sie bei Potentialmessungen an Zellkulturen nach unseren Beobachtungen eintreten können, soll hier berichtet werden.

Material und Methoden. K.B.-Krebszellen wachsen als monolayer in der Deckglaskultur. Die Messungen des Membranpotentials erfolgen in einer feuchten, thermostatisierten Messkammer⁴. Eine Kombination aus Mikroskop (Phasenkontrast) und Mikromanipulator (beides Fa. Carl Zeiss Jena) erlaubt eine schonende Punktion der Einzelzelle unter direkter mikroskopischer Kontrolle. Die Glasmikroelektroden (äusserer Spitzendurchmesser $\leq 0,5 \mu$, «Tip-Potential» ≤ 5 mV, 20–40 M Ω) werden durch Kochen im Vakuum mit 3 mol KCl gefüllt (s. LEVINE⁵). Die Potentialmessung erfolgt symmetrisch über KCl-Agarbrücken und Kalomelektroden mit dem Negativ-Capacitance-Elektrometer der Fa. Disa Elektronik Kopenhagen (Eingangswiderstand $> 10^{10} \Omega$, Gitterstrom $< 10^{12}$ A, Eingangskapazität < 1 pF). Anzeige und Registrierung erfolgt mittels Oszillograph und Kamera⁶. Widerstand und «Tip-Potential» werden unmittelbar in der Messkammer und im Nährmedium der Zellen (siehe⁷) vor Beginn der Messungen und nach jeweils 50 Zellpunktionen gemessen. Als indifferente Elektrode taucht ein dünnes, mit 3 mol KCl-Agar gefülltes Glasröhrchen in das Nährmedium.

Ergebnisse und Diskussion. Das Membranpotential in der K.B.-Zellkultur unterliegt etwa einer Normalverteilung⁷, das mittlere Membranpotential beträgt 11–13 mV (das Zellinnere negativ). Die Punktion der Zellen erfolgt normalerweise bei unseren Messungen so, dass die Elektroden spitze das Deckglas nicht berührt. Auf diese Weise kann man mehrere hundert Zellen punktieren, ohne dass sich Widerstand R_{EI} oder «Tip-Potential» $TPEI$ der Mikroelektrode wesentlich verändern. Sticht man dagegen durch die Zellen hindurch und drückt man die Elektroden spitze gegen das Deckglas, so verändert die Mikro-

elektrode ihre elektrischen Eigenschaften (siehe Figuren 1 und 2). Mit zunehmender Zahl von Zellpunktionen wächst der Elektrodenwiderstand, die Elektroden spitze wird negativer (Figur 1). Offenbar scheint es sich um einen «Verschmutzungs»-Effekt zu handeln, Zellmaterial wird in die Öffnung der Mikroelektrode hineingedrückt. Dies führt zu charakteristischen Veränderungen der elektrischen Eigenschaften der Meßsonde.

Die Figur 2 zeigt, wie sich mit zunehmendem Elektrodenwiderstand das «Tip-Potential» erhöht. KÜCHLER³ und

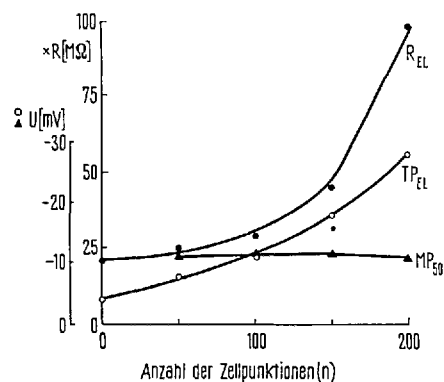


Fig. 1. Die Veränderungen von Widerstand R_{EI} und «Tip-Potential» $TPEI$ einer Glasmikroelektrode in Abhängigkeit von der Zahl n der punktierten K.B.-Krebszellen. MP_{50} , Mittelwert des Membranpotentials aus jeweils 50 Zellen.

¹ G. LING und R. W. GERARD, J. cell. comp. Physiol. 34, 383 (1949).

² R. H. ADRIAN, J. Physiol. 133, 631 (1956).

³ G. KÜCHLER, Pflügers Arch. Ges. Physiol. 280, 210 (1964).

⁴ K. REDMANN und D. MOSCHAU, Acta biol. med. germ. 20, 255 (1968).

⁵ L. LEVINE, Experientia 22, 559 (1966).

⁶ K. REDMANN, CH. STOLTE und D. LÜDERS, Naturwissenschaften 54, 255 (1967).

⁷ K. REDMANN, Biophysik 4, 92 (1967).

KERN^a fanden in ihren Untersuchungen an Skelettmuskelfasern bzw. in Testlösungen eine ähnliche Beziehung zwischen R_{EI} und TP_{EI} . Während diese Autoren aber eine grosse Zahl von Mikroelektroden mit gleicher Elektrolytkonzentration untersuchten und die unterschiedlichen Werte für R_{EI} und TP_{EI} und damit den Zusammenhang zwischen diesen Grössen in Abhängigkeit der nie genau übereinstimmenden, jeweils gegebenen Geometrie der Elektroden Spitze (Lumen, Länge, Beschaffenheit der Glasmembran) fanden, blieb in den vorliegenden Untersuchungen die Spitze der Mikroelektrode stets die gleiche und unbeschädigt. Statt dessen änderte sich wahrschein-

lich auf Grund des von uns vermuteten «Verschmutzungs»-Effektes die Elektrolytkonzentration in der Spitze der Kapillare. Unsere Beobachtungen deuten darauf hin, dass Elektrodenwiderstand und «Tip-Potential» nicht nur von der Länge und dem Querschnitt der Elektroden Spitze sowie der Konzentration der verwandten Lösungen, sondern auch von der Art und dem Ionisierungsgrad der Elektrolytfüllung im Innern der Spitze abhängen.

Wie die Figuren 1 und 2 zeigen, wird das Membranpotential MP (MP_{50} = arithmetisches Mittel aus jeweils 50 Zellen) auch nach mehreren hundert Zellpunktionen unverändert in gleicher Höhe gemessen. Erstaunlicherweise haben also die hier mitgeteilten Veränderungen der elektrischen Eigenschaften der Glasmikroelektrode keinen Einfluss auf die Membranpotentialmessung.

Summary. On KB cancer cells in the cover-glass culture with glass micro-electrodes we measured a middle membrane-potential of minus 11–13 mV. It is possible that the electrical qualities of the glass micro-electrodes may alter after some hundred makings of cell-points. An enlargement of the potential on the peak of the electrode (tip-potential) to -30 mV has no influence on the result of the measuring.

K. REDMANN und W. KALKOFF

Physiologisches Institut der Medizinischen
Akademie, 301 Magdeburg (DDR),
12. März 1968.

^a R. KERN, Diss. Math.-Nat. Fakultät, Heidelberg (1966).

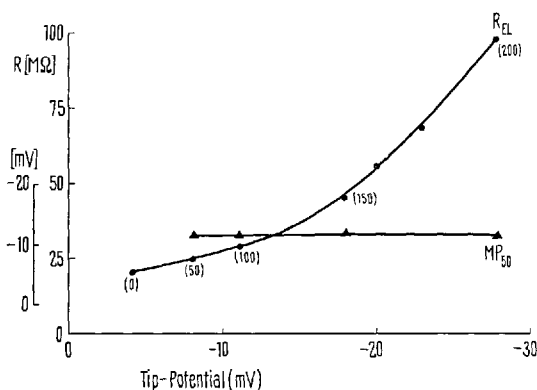


Fig. 2. Elektrodenwiderstand R_{EI} und Membranpotential MP_{50} von K.B.-Krebszellen in Abhängigkeit vom «Tip-Potential» TP_{EI} der Mikroelektrode. In Klammern Anzahl der Zellpunktionen.

CONGRESSUS

Italia

International Symposium on Pharmacological Treatment in Burns

in Milano, 30 November – 1 December 1968

Program and further information from: Prof. A. Bertelli, Via Vanvitelli 32, 20129 Milano (Italy).

International Symposium on Pharmacological Treatment in Organ and Tissue Transplantation

in Milano, second half of February 1969

CORRIGENDUM

R. M. GESINSKI and J. H. MORRISON: *The Effect of Anticoagulant EDTA on Oxygen Uptake by Bone-Marrow Cells*, Experientia 24, fasc. 3, p. 296 (1968). An error has been made in calculating the values for oxygen consumption and therefore **all values given for μ l oxygen con-**

sumed in the text and in the Figure of the above mentioned article **should be corrected by dividing by a factor of 4.77**. This correction does not alter the interpretations made in the paper, but changes only the magnitude of the consumption reported.