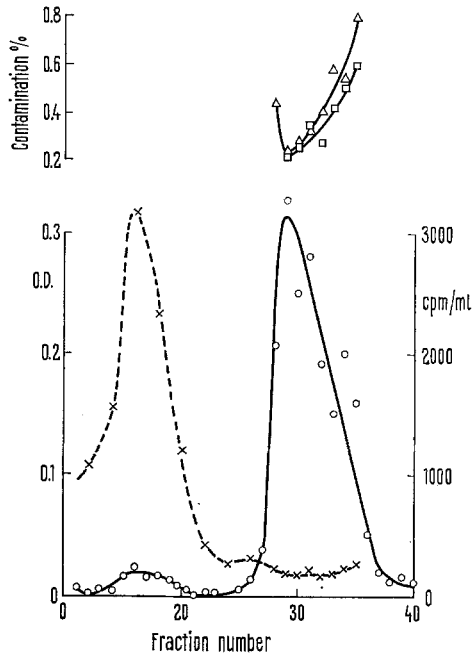


contamination is not decreased under conditions where separation should be more efficient, namely at lower degrees of loading of the CsCl with DNA. Nor is it decreased when the proportion of 'heavy' DNA is decreased. Both these latter facts suggest that an association between

the molecules of DNA may be occurring which is not resolved on CsCl density gradient centrifugation. The observation may be of importance under certain experimental conditions when quantitative separations are required.



Lower curves: Optical density and ^{14}C -activity profiles for run 3 of the Table. —○—, O.D. at 260 nm; ---×---, cpm/ml of diluted fractions. Upper curves: Contamination of 'light' DNA by 'heavy' DNA ($\mu\text{g}/100 \mu\text{g}$). —△—, run 3 of the Table; —□—, run 4 of the Table.

Contamination of 'light' DNA peak by radioactive 'heavy' DNA

Run	% 'heavy' DNA added	Loading of CsCl (μg DNA/ml)	Contamination (μg 'heavy' / 100 μg total)
1	10.5	55	0.1–1.0
2	4.5	65	0.1–0.3
3	2.0	42	0.2–0.8
4	2.0	21	0.2–0.6

In runs 1 and 2, the 'heavy' DNA had been fractionated as described above (BU- ^{14}C -DNA). In runs 3 and 4, 'heavy' DNA carried the ^{14}C marker on the bromouracil only (^{14}C -BU-DNA).

Résumé. Des mélanges de l'ADN («léger») et de l'ADN- ^{14}C -BU («lourd») ont été centrifugés dans le chlorure de caesium pendant 65 h à 60,000 g. Le résidu de l'ADN «lourd» dans l'ADN «léger» fut de l'ordre de 0.1 à 1%. La grandeur du résidu n'a pas correspondu à la proportion de l'ADN «lourd», ni à la concentration totale de l'ADN dans le chlorure de caesium.

A. B. ROBINS

Biophysics Department, Institute of Cancer Research, Sutton (Surrey, England), 7 February 1969.

Proteinzuwachs und Glukoseaufnahme isolierter Myokardzellen von Hühnchenembryo und Ratte in der Primärkultur

Die Aufklärung molekularbiologischer Mechanismen auch an Körperzellen höherer Organismen erfordert in zunehmendem Masse den Einsatz geeigneter Zellpopulationen in Primärkultur. Insbesondere für die Charakterisierung des transmembranen Transportmechanismus kommt solchen Versuchsmodellen eine Bedeutung zu, da sie den Extrazellularraum leicht zu kontrollieren gestatten. Im Rahmen unserer Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Insulins prüften wir unter diesem Aspekt die Eignung von Myokardzellen, die den Vorteil eines sichtbaren Funktionskriteriums, der autorhythmischen Kontraktion, besitzen, und berichten über einige basale Parameter, die das allgemeine Verhalten von Primärkulturen aus dem Myokard des Hühnchenembryos und der neugeborenen Ratte umschreiben.

Die Präparation der Zellen erfolgte aus 10 Tage alten Hühnchenembryonen bzw. maximal 48 h alten Ratten mittels fraktionierter Trypsinierung der mechanisch zerkleinerten Herzen in Anlehnung an CAVANAUGH¹, HALLE² und HARARY³; methodische Einzelheiten siehe⁴. Die Kultur der Myokardzellen des Hühnchenembryos (Ch) wurde aus 2 ml Zellsuspension (halbsynthetisches Nährmedium M 12), die im Mittel 500 000 Zellen enthielt, angelegt, der Anteil der toten Zellen (Trypanblau) betrug 5–15%. Nach 22 h

Inkubation (37 °C) war ein geschlossener Zellrasen mit einem Anteil von 10–20% pulsierender Zellen entstanden. Die Kultur der Myokardzellen der neugeborenen Ratte (R) wurde in wenig modifizierter Weise angelegt, ein geschlossener Zellrasen mit einem Anteil von 80–90% pulsierender Zellen lag nach 40–42 h vor.

Nach dieser Zeit erfolgte der erste Wechsel des Mediums und damit der eigentliche Beginn der Versuche, in denen über mehrere 24-Stunden-Perioden das Gesamtprotein der Zellen (nach⁵ mit Lowry-Lösung) sowie der Glukosegehalt des Mediums (Glukoseoxydase-Peroxydase nach⁶) ermittelt wurden.

Für den Proteinzuwachs der Kulturen (Startprotein um 200 μg) fanden wir ein unterschiedliches zeitpropor-

¹ M. W. CAVANAUGH, J. exp. Zool. 128, 573 (1955).

² W. HALLE, Acta biol. med. german. 10, 387 (1963).

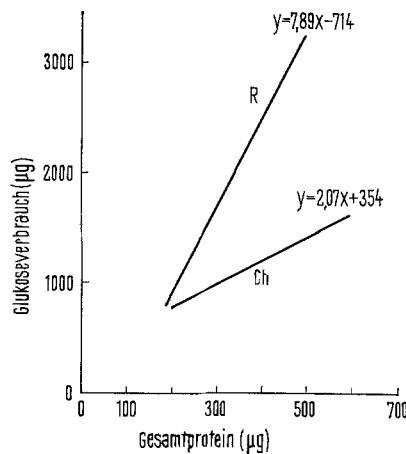
³ I. HARARY und B. FARLEY, Exp. Cell. Res. 29, 451 (1963).

⁴ B. ZIEGLER, H. G. LIPPMANN, R. MEHLING und E. JUTZI, Acta biol. med. german., in Vorbereitung.

⁵ J. RERABEK, in *Leitfaden der Gewebezüchtung* (Gustav-Fischer-Verlag, Jena 1960), p. 206.

⁶ P. KÖHLER, Z. ges. inn. Med. 17, 674 (1962).

tionales Verhalten: für Ch ist er um so grösser, je niedriger das Startprotein, und um so kleiner, je älter die Kultur wird; er beträgt für die erste 24-Stunden-Periode bei einem Ausgangswert von etwa 200 µg Startprotein (SP) im Mittel $48,2 \pm 5,8$ µg/100 µg SP·24 h ($N = 18$); für R ist er demgegenüber ausserordentlich gering ($3,0$ µg/100 µg SP·24 h, $N = 18$). Die Ch-Kultur zeigt also rasches Wachstum, wobei nicht ausgeschlossen werden kann, dass der Proteinzuwachs neben Myoblasten auch Fibroblasten betrifft, während die R-Kultur, die einen hohen Anteil an Endothelzellen enthalten soll⁷, in vergleichbaren Zeiten (48-Stunden-Periode) kaum Wachstum aufweist. Der Glukoseverbrauch der Kulturen verhält sich dagegen um-



Glukoseverbrauch isolierter Myokardzellen in der Primärkultur [Mischkultur aus dem Gesamt Herzen der neugeborenen Ratte (R) und dem Ventrikelanteil des 10 Tage alten Hühnchenembryos (Ch)] als Funktion des Zellproteins.

gekehrt: Bezogen auf das Gesamtzellprotein, verbraucht die R-Kultur wesentlich mehr Glukose als die Ch-Kultur (Figur); darüberhinaus wird die Glukoseabhubrate in der Ch-Kultur mit zunehmendem Gesamtprotein geringer, was offenbar in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Anteil der pulsierenden Zellen in beiden Kulturen steht.

Die beschriebene Charakteristik weist die isolierte Myokardzelle als geeignet für die Untersuchung von Proteinsynthese (Ch-Kultur) und Glukoseutilisation (R-Kultur) aus: Insulin ($0,04$ – $4,0$ µg/ml Medium) bewirkt in der R-Kultur ohne messbare Beeinflussung der Proteinzuwachsrates eine Erhöhung der Glukoseaufnahme um etwa 20%; in der Ch-Kultur führt es zu einer signifikanten Erhöhung der Proteinzuwachsrates um etwa 53%, während der Glukoseumsatz nur wenig verändert wird. Über diese Effekte des Insulins werden wir in Kürze ausführlich berichten⁸.

Summary. Primary cultures of isolated myocardial cells of the chicken embryo (Ch) and of the new-born rat (R) present a characteristic behaviour of an increase of protein synthesis and glucose uptake: while in the Ch the increase of protein synthesis exceeds, in the R a high glucose uptake is shown. Both processes could be influenced by insulin.

BRIGITTE ZIEGLER, H. G. LIPPMANN,
RENATE MEHLING und E. JUTZI

Institut für Diabetes «Gerhardt Katsch»,
Bereich experimentelle Diabetesforschung,
2201 Karlsburg bei Greifswald (DDR), 28. Januar 1969.

⁷ G. MARK und F. F. STRASSER, *Expl Cell Res.* 44, 217 (1966).

⁸ Die Untersuchungen wurden mit Mitteln eines Forschungsauftrages des Ministeriums für Gesundheitswesen der DDR durchgeführt.

A Cheap and Quick Method of Screening Potential Antimycobacterial Agents in the Syrian or Golden Hamster (*Cricetus auratus*)¹

DENNIS and his co-workers² standardized the assay of antituberculous drugs in hamsters. Hamsters, weighing 50–60 g, were injected s.c. with 0.01 mg (moist weight) of *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv. They showed median survival times of between 120 and 144 days. The earliest death occurred on the 76th day and the latest on the 264th day. Streptomycin (SM) and paraaminosalicylic acid (PAS) were found effective by their method. About 6 months were required to test potential antituberculous drugs.

In our experiment a virulent infection was produced in hamsters by intracardiac route of infection and drugs were given for a period of 14 days only. Efficacy of a drug was estimated on the basis of extension of survival times of the treated groups over the control group. A histopathological check was also made on the 14th day of infection to see the evolution of disease.

Materials and methods. 32 golden hamsters, weighing approximately 120 g each, were infected intracardially with 0.5 mg (moist weight) of a 3-week-old culture of *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv by the method of GUPTA and MATHUR³. The hamsters were then divided into 4 groups of 8 animals each as shown in the Table. Isoniazid (INH) was given orally, SM was given i.m.

The survival time of each animal was noted and all dead animals were necropsied. One animal of each group was sacrificed on the 14th day of infection and their lung, liver and spleen were subjected to routine histology.

Results. INH at a dosage of 5 and 50 mg/kg showed an increase in the survival times of 12.7 and 34.6 days respectively whereas SM showed an increase of 32.0 days when compared with the control group (Table).

Histopathology. The lung and tracheobronchial glands of the control hamster showed pyknotic degeneration, caseation necrosis and epithelioid cell infiltration but the lungs of the treated groups showed normal histology. Only the tracheobronchial glands of the SM-treated group showed small epithelioid cell foci. The control liver showed innumerable foci of epithelioid cell infiltration whereas fatty degeneration was seen in the livers of the INH-treated groups and a few epithelioid foci were found in the

¹ Communication No. 1363 from the Central Drug Research Institute, Lucknow (India).

² E. W. DENNIS, F. C. GOBLE, D. A. BERBERIAN and E. J. FREHLI, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 52, 646 (1949).

³ S. K. GUPTA and I. S. MATHUR, *Indian J. med. Res.* 52, 973 (1964).