

a) Der obere Teil der Figur gibt schematisch die Anordnung von Laser L, Spiegel S und Empfänger E wieder. Die Gegenstandsweite g ist der Abstand des Spiegels von Objektiv O. Die zugeordnete Bildweite b ist der Abstand des Objektivs von der Photodiode. A ist die Absorptionsplatte.

b) Der untere Teil der Abbildung ist eine symbolische Darstellung der Brückenschaltung für die Dioden mit der Ausgangsspannung U'_a und des operativen Verstärkers mit der Ausgangsspannung $U_a = f'(U'_a)$. Die belichtete Diode ist durch 1 kenntlich gemacht. U_o = Referenzspannung.

der Dimension Volt/cm. Um eine Proportionalität zwischen U_a und x herzustellen, wird U'_a durch den nachfolgenden Verstärker gewandelt in $U_a = f'(U'_a)$. f' ist die Umkehrfunktion von f . f' wird empirisch durch einen Polygonzug angenähert, der experimentell durch einen operativen Verstärker mit einem Rückkopplungsnetzwerk aus Dioden unterschiedlicher Vorspannung realisiert wird. Man erhält so $U_a = f'(f(k \times x)) = k \times x$.

Die Empfindlichkeit des Empfängers $E = dU_a/dx = k$ ist bei voller Aussteuerung des Objektivs ($x_{max} = 7$ cm) und des Verstärkers ($U_{amax} = 10$ Volt) gleich 1,4 Volt/cm. Dem Nutzsignal U_{an} ist die Rauschspannung U_{ar} überlagert: $U_a = U_{an} + U_{ar}$. Definiert man die untere Nachweisgrenze Δx_{min} der Versuchsanordnung durch die Bedingung $U_{an} = U_{ar}$, so ist für $U_{ar} = 10$ mV $\Delta x_{min} \approx 2U_{ar}/E = 0,014$ cm entsprechend einer Messgenauigkeit bei Vollausschlag von 0,2%. U_{ar} wird in unserer Anordnung im wesentlichen durch das Laserlicht erzeugt.

Die Einstellzeit von U_a auf eine sprungförmige Änderung von x ist durch die obere Grenzfrequenz von Diode und Verstärker beschränkt, die wesentlich höher liegen als die Eigenfrequenz des Torsionssystems. Wegen der geringen Divergenz des Laserlichtes ist es möglich, über einen langen Lichtzeiger ausserordentlich kleine Dreh-

winkel zu messen. Das bedeutet, dass auch bei kleinen Muskelkräften eine hohe Eigenfrequenz des Torsionsystems eingestellt werden kann. In diesem Punkt ist unsere Anordnung den optischen Messwertwandlern von HELLAM und PODOLSKY¹, MINELLI et al.² und DEBY et al.³ überlegen, da diese Anordnungen durch Blenden etc., die vom Torsionssystem mitbewegt werden, wesentlich träge sind.

Summary. The set-up of a transducer is described: The deviation of a laser beam, reflected from the mirror of a torsion-myograph is transformed into an electrical analog signal.

J. BÜCKING, M. HERBST und P. PIONTEK

Arbeitsgruppe Zellphysiologie des
Physiologischen Instituts der Universität Hamburg,
Martinistraße 52, D-2000 Hamburg 20 (Deutschland),
30. März 1973.

¹ D. C. HELLAM and R. J. PODOLSKY, J. Physiol. 200, 807 (1969).

² R. MINELLI, V. PANAGIA and C. REGGIANI, Boll. Soc. Ital. Biol. sper. 45, 1536 (1969).

³ C. DEBY, G. ESPREUX and C. TOPA, Experientia 28, 114 (1972).

Künstliche Ernährung von Blattläusen: Eine neue Technik zur Herstellung der Parafilm-Sachets

Seit HAMILTON¹ 1930 erstmals die Fütterung von Blattläusen unabhängig von der Wirtspflanze versucht hat, sind die Methoden der künstlichen Ernährung dieser Insekten ständig verbessert worden. In erster Linie bezogen sich diese Verbesserungen auf die chemische Zusammensetzung der Nährösungen für verschiedene Blattlausar-

ten, wobei vor allem die Schulen von DADD und MITTLER^{2,3} in den USA, AUCLAIR und CARTIER^{4,5} in Kanada und EHRHARDT⁶ in Deutschland wesentliche Beiträge lieferten. Einen grossen Fortschritt bedeutete außerdem der Ersatz der bisher gebräuchlichen Membranen verschiedenster Art durch Parafilm². Die Konstruktion der

Fütterungskammer für Blattläuse wurde im Laufe der Zeit immer wieder verbessert und vereinfacht, ebenso die Zubereitungs- und Sterilisationstechnik.

Seit 2 Jahren werden auch in der Entomologischen Abteilung der Universität Freiburg (Schweiz) Blattläuse an künstlichen Nährösungen gezüchtet. Dabei ist eine neue Methode zum Füllen der Parafilm-Sachets entwickelt worden, welche gegenüber den bisherigen Methoden wesentliche Vorteile bietet.

Unser Käfig-System besteht im wesentlichen aus 2 einfachen Grundeinheiten, nämlich zwei Sorten von Glasringen mit folgenden Dimensionen: A-Ring 24 × 15 mm, B-Ring 30 × 6 mm. Die A-Ringe dienen als Träger der Parafilm-Sachets mit der Nährösung. Die B-Ringe finden einerseits als Käfigteile, andererseits bei der Herstellung der Parafilm-Sachets Verwendung.

Der Fütterungskäfig (Figur 1) besteht aus einem A-Ring, oben abgeschlossen durch ein Parafilm-Sachet, welches die Nährösung enthält, und einem mit Gaze bespannten B-Ring. Als Sockel dient ein Objektträger mit aufgeklebtem Korkstopfen. Dieser Blattlaus-Fütterungskäfig eignet sich selbstverständlich auch für Versuche mit der von KLINGAUF⁷ entwickelten «doppelten Membran», wobei gleichzeitig zwei verschiedene Lösungen – durch eine zusätzliche Membran getrennt – ange-

boten werden. Die mit den Parafilm-Sachets versehenen A-Ringe lassen sich auch bei einer Wahlkammer nach CARTIER und AUCLAIR⁸ verwenden (Figur 2).

Fülltechnik. 1. Parafilmstücke von ca. 20 × 20 mm werden ausgeschnitten. Diese Stücke werden in Längs- und Querrichtung vorgedehnt, über A-Ringe gestülpt und aussen leicht festgedrückt. Der überstehende Rand der Membranen an der Aussenseite der Ringe wird ca. 3 mm unterhalb der Oberkante durch Drehen der Ringe an einer horizontal fixierten Rasierklinge abgeschnitten und entfernt. Dabei muss darauf geachtet werden, dass die Oberseite der Membran innerhalb des Ringes während der ganzen Prozedur nie berührt wird und absolut sauber bleibt.

Es hat sich gezeigt, dass der Ausfall an geplatzten Membranen bei der Herstellung und im Versuch am kleinsten ist, wenn die Membranen nur etwa auf das zweifache in jeder Richtung und nicht bis zum Maximum vorgedehnt werden. Für die Blattläuse scheint der Dehnungsgrad der Parafilm-Membran keine Rolle zu spielen⁹.

Analog wird eine gleich grosse Anzahl B-Ringe mit Parafilm-Membranen bespannt. Die auf diese Weise vorbereiteten Glasringe werden auf (stapelbaren) Glasplatten mit Korkfüssen in einem Sterilisationskasten (Glove-Box) staubfrei gelagert.

2. Zusammen mit allen für die Füllung benötigten Instrumenten und der (UV-geschützten) Nährösung werden die Glasringe mit den Membranen nach oben während 3 Stunden im dicht geschlossenen Sterilisationskasten mit einer UV-Lampe (Philips, 220 V, 30 W) bestrahlt. Der mittlere Abstand zur Lampe beträgt dabei rund 60 cm. Die Dimension des benutzten Kastens erlaubt eine gleichzeitige Sterilisation von je 150 Membranen auf A- und B-Ringen.

3. Die weiteren hier beschriebenen Manipulationen erfolgen alle mit Gummihandschuhen im dicht geschlossenen Kasten unter sterilen Bedingungen. Zuerst werden

1. M. A. HAMILTON, Ann. appl. Biol. 17, 487 (1930).
2. T. E. MITTLER and R. H. DADD, Nature, Lond. 195, 404 (1962).
3. R. H. DADD and T. E. MITTLER, Experientia 22, 832 (1966).
4. J. L. AUCLAIR and J. J. CARTIER, Science 142, 1068 (1963).
5. P. N. SRISTAVA and J. L. AUCLAIR, Ann. ent. Soc. Am. 64, 474 (1971).
6. P. EHRHARDT, Experientia 24, 82 (1968).
7. F. KLINGAUF, Z. angew. Ent. 68, 41 (1971).
8. J. J. CARTIER and J. L. AUCLAIR, Can. Ent. 96, 1240 (1964).
9. J. J. CARTIER and ST. G. MORIN, Ann. ent. Soc. Quebec 10, 69 (1965).

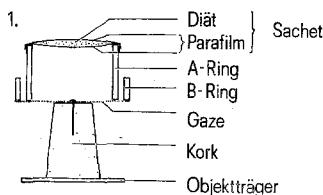


Fig. 1. Blattlaus-Fütterungskäfig (im Schnitt).

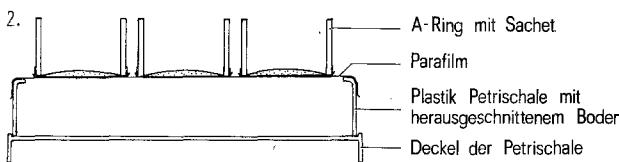


Fig. 2. Wahlkammer in Anlehnung an CARTIER und AUCLAIR⁸ (im Schnitt).

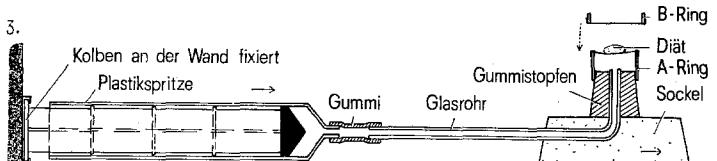


Fig. 3. «Evakuationsapparat» zum Füllen von Parafilm-Sachets (im Schnitt).

die Glasplatten mit den Ringen aufeinandergestapelt um Platz zu gewinnen. Dann wird ein steril verpackter Sartorius-Filtrationsvorsatz mit einem Bakterienfilter (SM 165 18, mittlere Porengröße 0,45 µm) auf einen Dispenser aufgeschraubt. So lassen sich stets gleichbleibende Portionen von 0,3 ml steril filtrierter Nährösung auf die UV-sterilisierten Membranen auftragen. Die Füllung der Sachets wird durch einen einfachen «Evakuationsapparat» (Figur 3) erleichtert: Ein bespannter A-Ring wird auf den Gummistopfen des Sockels aufgesetzt. Durch leichtes Ziehen am Sockel kann ein Unterdruck erzeugt werden, und die Membran wird nach unten eingedellt. Nach dem Auftragen der Nährösung in diese Eindellung legt man einen B-Ring (mit der Membran nach unten) darauf, so dass der Tropfen sich ausbreitet. Sofern er nicht die ganze Fläche schön ausfüllt, schiebt man mit der linken Hand den Sockel soweit zurück, bis der Tropfen bis zum Rand ausgebreitet ist, und drückt dann mit der rechten Hand den B-Ring ganz nach unten auf den Sockel. Dabei reißt die Membran vom B-Ring los und verklebt von selbst über der Kante des A-Rings mit der unteren Membran. Der A-Ring mit dem fertigen Sachet und der leere B-Ring werden vom Gummistopfen abgenommen, und der nächste

Ring wird aufgesetzt. Diese einfachen Handgriffe lassen sich auch mit relativ dicken Gummihandschuhen ohne Schwierigkeiten ausführen, und bei einiger Übung kann man auf diese Weise ohne weiteres 150 Sachets in 90 Minuten füllen.

Anschliessend an die Füllung der Sachets werden diese auf allfällige Beschädigungen hin kontrolliert und dann bei -25°C bis zu ihrer Verwendung auf den A-Ringen eingefroren. In eigenen Versuchen wurden nach dieser Methode bisher über 6000 Parafilm-Sachets hergestellt, wobei die Ausfallquote bei der Herstellung (undichte Sachets, geplatzte Sachets) auf weniger als 5% gesenkt werden konnte.

Summary. A new technique is described which allows massproduction of parafilm-sachets, containing artificial diet for aphids, under sterile conditions.

P. HERGER

Entomologische Abteilung,
Zoologisches Institut der Universität,
Pérolles, CH-1700 Freiburg (Schweiz), 7. März 1973.

Visualization of Immunoabsorption by Immunofluorescence

Immunoabsorption by affinity chromatography has become a widely used tool in modern protein chemistry, enzymology and immunology. Proteins are covalently bound to the sorbent, i.e. microcrystalline cellulose (Merck) or Sephadex, or Sepharose (WIDE¹⁻³), and thereby made insoluble. Enzymes can be bound to the sorbent and packed into a column, which enables the continuous breakdown of the respective substrate, and the reaction can be stopped without the necessity of destroying the enzyme.

By coupling antigen to the sorbent, its homologous antibody can be trapped in pure form from an anti-serum by immunological specificity and thereafter desorbed by lowering the pH to 2.3-2.6 or by 3 M NaSCN (CARREL and BARANDUN⁴). This method has been used by MESSERLI and FEY⁵ for measurement and classification of bovine colostral pure antibodies from cows immunized with different proteins. The same technique can be applied to the isolation of antigen by a column containing insolubly bound antibody, i.e. enzymes, haptens and ligands (KENYON et al.⁶). Recently KENYON et al. isolated the Aleutian Mink Disease Virus by affinity chromatography.

WIDE² introduced the immunosorbent technique into the routine determination of hormones and IgE in the so-called radio-immuno-sorbent-test (RIST). The RIST has since become a rapid test for mass screening and precise determination of several hormones.

In our attempts to adapt the RIST for application in the field of bacteriology, virology and serology, we started experiments with pneumococci of type 2 and the respective rabbit antibody, which we coupled to Sepharose 2B by means of the cyanobromide method (WIDE²). Being inexperienced in this field, we tried to prove the successful Sepharose activation and antibody coupling by using the immunofluorescence method as follows:

Methods. The rabbit *Pneumococcus* type 2 antibody globulins were precipitated by 50% saturation with

ammonium sulfate, followed by 2 washings with 50% saturated ammonium sulfate and dialysis against 0.1 M NaHCO₃.

The coupling of the *Pneumococcus* antibody protein to CNBr activated Sepharose 2B (Pharmacia, Uppsala) was performed by the method of WIDE and PORATH¹ with some minor modifications. A raw polysaccharide fraction was extracted from a dense culture of *Pneumococcus* type 2 by ox-bile, acetic acid and absolute alcohol after ROESGAARD (1945) (cited by LUND⁷).

Antibody labelling with FITC was performed as described by THOMASON et al.⁸ with our own modifications. For fluorescence microscopy we used a Wild equipment with a FITC interference filter and a quartz-iodine lamp illumination, as described by FEY and BRAUN⁸. For photography we used the film Ektachrome High Speed 23 DIN, developed at 32 DIN which increases ist sensitivity 4-fold (FEY and BRAUN⁹).

Results. First we filled a small column (5 × 40 mm) with the Sepharose-anti-*Pneumococcus* type 2 conjugate and passed 1 ml of a suspension of pneumococci type 2 with an optical density of 0.17 at 543 nm. The eluate appeared water-clear and had an OD of < 0.01. Even prolonged washing did not cause any turbidity of the

- 1 L. WIDE and J. PORATH, Biochim. biophys. Acta 130, 257 (1966).
- 2 L. WIDE, 1st Symposium on Immunoassay of Gonadotrophins, Stockholm, September 1969, p. 207.
- 3 L. WIDE, H. BENNICH and JOHANSSON, Lancet 1967, 1105.
- 4 S. CARREL, H. GERBER and S. BARANDUN, Nature, Lond. 221, 385 (1969).
- 5 J. MESSERLI and H. FEY, Zentbl. Vet. Med. B, 20, 177 (1973).
- 6 A. J. KENYON, J. E. GANDER, C. LOPEZ and R. A. GOOD, Science 179, 187 (1973).
- 7 E. LUND, Bull. Wld. Hlth. Org. 23, 5 (1960).
- 8 B. M. THOMASON, W. B. CHERRY, B. R. DAVIS and A. POMALES-LEBRON, Bull. Wld. Hlth. Org. 25, 137 (1961).
- 9 H. FEY and K. BRAUN, Festschrift Wild, Heerbrugg (1971), p. 24.