

## PRO LABORATORIO

### Beschreibung eines Gewebeschnidders zur Herstellung überlebender Gewebescheiben

Das Studium von Stoffwechselvorgängen *in vitro* mit überlebenden Gewebescheiben ist immer an Reihenversuche gebunden und an die statistische Auswertung der Ergebnisse. Je grösser nun die Reihen sind und je ähnlicher deren Einzelversuche untereinander, desto einwandfreier ist es, den statistisch errechneten Mittelwert als charakteristisches Ergebnis des Versuchs zu bezeichnen. Da nun in den meisten Fällen der Grösse der Reihen enge Grenzen gezogen sind, ist es besonders wichtig, dass die Einzelversuche untereinander so ähnlich wie möglich sind.

Um das zu erreichen und somit die *in vitro* erhaltenen Ergebnisse auf die Vorgänge im gesamten Organismus übertragen zu können, sind folgende Bedingungen von grundlegender Bedeutung:

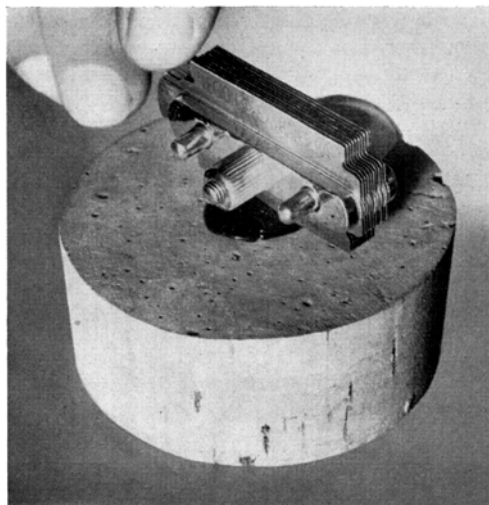
1. Die Zeitspanne zwischen dem Tod des Versuchstieres und dem Anfang des zu messenden Vorganges soll so kurz wie möglich sein.
2. Jede Gewebescheibe für sich, ebenso wie die Gewebescheiben derselben Serie, sollen eine bestimmte gleichmässige Dicke aufweisen<sup>1</sup>.

Um diesen beiden Geboten gerecht zu werden, sind eine Anzahl von Verfahren im Gebrauch, die mehr oder weniger stark von der Geschicklichkeit des Ausführenden abhängig sind. Sei es, dass man eine Rasierklinge benutzt oder ein Instrument, wie das von STADIE und RIGGS<sup>2</sup> vorgeschlagene, immer wird man eine grössere Anzahl Gewebescheiben schneiden müssen, um unter ihnen die für die Versuchsreihe geeignetsten auszuwählen.

Das im folgenden beschriebene Instrument<sup>3</sup> hat den Vorteil, diesen zeitraubenden Vorgang abzukürzen und ihn von der Geschicklichkeit des Ausführenden weitgehend unabhängig zu machen. 10 Rasierklingen werden durch Trennblätter (aus rostfreiem Material) bestimmter Dicke in gleichem Abstand gehalten und auf die im Bild ersichtliche Art mit einem Griff verbunden, wobei darauf zu achten ist, dass die Schneiden absolut in einer Ebene liegen. Diese Anordnung erlaubt, mit einer einzigen Schnittbewegung 9 Gewebescheiben zu erhalten, deren Dicken im Durchschnitt um nicht mehr als 10% schwanken.

Zur Anfertigung von Rattenleberschnitten verfährt man folgendermassen: Auf einen Korkstopfen von etwa 3 cm Höhe und 7 cm Durchmesser legt man einen Leberlappen, den man mit Zeige- und Mittelfinger der linken Hand leicht an den Kork drückt. Das in der rechten Hand gehaltene Instrument wird jetzt derart auf den Leberlappen gesenkt, dass die der rechten Hand zugewandte Schneidenhälfte etwa auf den höchsten Punkt der natürlichen Lappenwölbung zu liegen kommt. Nun wird in einer einzigen Schnittführung, deren Verlauf die Resultierende einer senkrechten und waagrechten Bewegung ist, der Leberlappen zerschnitten. (Es ist unerlässlich, das zu schneidende Gewebe, wie auch die Klingen, vor dem Schnitt ausgiebig mit eiskalter Flüssigkeit zu

befeuchten.) Während des Schneidens achte man darauf, dass die Klingen senkrecht zur Unterlage gerichtet sind.



Hat man am Ende der Schnittbewegung einen leichten Druck gegen den Kork ausgeübt, so stecken die getrennten Gewebescheiben zwischen den Klingen, von wo sie leicht und unbeschädigt entfernt werden können, wenn man die gebogenen Spitzen einer der in der Augen Chirurgie verwendeten Pinzetten längs der Trennblätter zwischen die Klingen führt. Hat man aber am Ende der Schnittbewegung nicht besonders auf die Unterlage gedrückt, dann bleiben die Gewebescheiben am äussersten Rand verbunden und können also leicht mit der Pinzette entfernt werden, ohne die Schneiden zu berühren. Sie werden dann mit einem einzigen Scherenschnitt längs der zusammenhängenden Ränder auf einmal getrennt.

Man erhält auf die eine oder andere Weise in kürzester Zeit 9 Gewebescheiben, die immer sehr gleichmässig ausfallen.

Nach FUHRMAN und FIELD<sup>4</sup> liegt die günstigste Dicke der Rattenleberscheiben für metabolische Versuche im Warburgschen Apparat zwischen 0,48 und 0,62 mm. Benutzt man zwei Trennblätter (eins von 0,2 mm und eins von 0,3 mm Dicke) zwischen den Rasierklingen, so wird man Scheiben erhalten, deren Dicke einige Hundertstel millimeter um 0,5 mm schwankt und für diese Art von Experimenten äusserst günstig sind.

Ein typisches Beispiel<sup>5</sup> für in der beschriebenen Weise angefertigte Schnitte und ihre Atmung ist folgendes Experiment:

Sauerstoffverbrauch von Rattenleberschnitten

Substrat: Glukose. Klingenabstand 0,5 mm.

Vom Tod des Tieres bis zum Anfang der Messung verstrichen 14 min.

Gefäss Nr.	Gefäss- konstante	Korrigierte Manometer- ablesung	Trockenes Gewebe mg	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>
2	1,15	103	12,8	9,26
155	1,20	109	14,1	9,28
4	1,12	108	13,7	8,84
173	1,07	93	10,5	9,48
2	1,13	110	13,0	9,56

<sup>1</sup> J. FIELD, *Methods of medical research* (The Yearbook Publishers Inc., Chicago 1948), vol. 1, p. 289.

<sup>2</sup> W. C. STADIE und B. C. RIGGS, *J. biol. Chem.* 154, 687 (1944).

<sup>3</sup> Die Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland, hat die Herstellung übernommen.

<sup>4</sup> F. A. FUHRMAN und J. FIELD, *Arch. Biochem.* 6, 337 (1945).

<sup>5</sup> Dieses Beispiel wurde von Herrn Dr. E. FIGUEROA gegeben, dem ich dafür zu Dank verpflichtet bin.

Eine grössere Anzahl Trennblätter von 0,2 mm und 0,3 mm Dicke bieten grösste Variationsmöglichkeiten.

W. HÜLSEN

*Institut für physiologische Chemie und Pathologie, Medizinische Fakultät der Universität Chile, Santiago, den 31. Juli 1956.*

#### Summary

A simple tissue-slicer is described. It consists of 10 razorblades mounted in a handle. Details are given how to obtain, with one cut, 9 very similar tissue slices.

### PRO EXPERIMENTIS

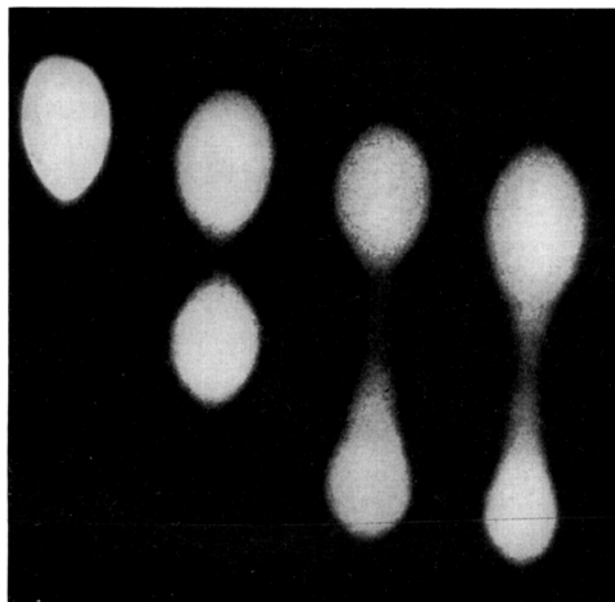
#### A New Method for Visualizing and Recording Photographically Bioautograms

Working with bioautograms of different forms of cobalamins, especially in liver extracts, obtained by a modification of KOCHER's method<sup>1</sup> (agar plates with *Escherichia coli* 113/3, paper strips applied on the surface for exactly 3 min), difficulties were encountered in the visual observation and photographic record of the zones of exhibition. Looking for a method that did not require the addition of any substance (such as 2:3:5-triphenyl tetrazolium chloride and related compounds)<sup>2</sup> to the agar before incubation, a number of reactions used to demonstrate peroxidatic activity were tried.

Positive results were obtained, with the appearance of coloured zones corresponding to the sites of growth of *E. coli* 113/3, by pouring on the surface of the agar plates after incubation one of the following reagents: pyrogallol, *p*-phenylenediamine · HCl (both 5% w/v in distilled water), hydroquinone (5% w/v in NaOH 0.1 N), and a mixture 1:1 of  $\alpha$ -naphthol and dimethyl-*p*-phenylenediamine · HCl (both 1% w/v), followed by water rinsing and the addition of hydrogen peroxide (1% w/v).

The best results were obtained with *p*-phenylenediamine · HCl. 5 g of *p*-phenylenediamine · HCl are dissolved in 100 ml of distilled water, a little charcoal is added and the solution passed through filter paper. The clear solution is immediately poured on the surface of the agar plate (about 50–60 ml for a plate 31 × 22 cm): after 3 min it is washed away with two-three changes of

distilled water and 50–60 ml of hydrogen peroxide (1% w/v) are added.



Photostatic copy of the paper chromatograms of cyanocobalamin, and three different natural liver extracts (from left to right). Development of the bioautogram with *p*-phenylenediamine · HCl.

In 2–3 min well defined zones with a violet-black colour appear. The hydrogen peroxide solution is washed away and the agar surface is two–three times rinsed with distilled water. Photographic records have to be taken in a few minutes, as a dark background colour soon develops which makes a sharp distinction of the zones of exhibition difficult.

With hydroquinone solutions, used in a similar way, although the zones of growth show a lighter brownish colour, the background does not disturb the photographic records for a few hours.

A. CRESSERI and  
A. SPELTA (technical assistant)

*Biological Laboratory, Istituto 'Carlo Erba' per Ricerche Terapeutiche, Milano (Italy), July 30, 1956.*

#### Riassunto

Viene rapidamente descritto un nuovo metodo per lo sviluppo e la fotografia di bioautogrammi su piastra d'agar con *Escherichia coli* 113/3.

<sup>1</sup> V. KOCHER, Int. Z. Vitaminf. 26, 321 (1956).

<sup>2</sup> J. E. FORD and E. S. HOLDSWORTH, Biochem. J. 53, xxii (1953).