

EXPERIENTIA

Vol. II - Fasc. 5

Pag. 153-196

15. V. 1946

Struktur- und Funktionszusammenhang des Zytoplasmas¹

Von LUDWIK MONNÉ², Stockholm

Die Oberfläche der lebenden, unter ganz normalen Bedingungen untersuchten Seeigeleier ist positiv doppelbrechend in bezug auf den Radius (RUNNSTRÖM, MONNÉ³ und BROMAN, MONROY⁴). Es konnte festgestellt werden, daß die Doppelbrechung von der Eirinde verursacht wird. Es konnte ausgeschlossen werden, daß sie von den äußeren Hüllen des Eies herrührt. Die Doppelbrechung verschwindet vollständig oder wird erheblich abgeschwächt unter der Einwirkung lipoidlösender Mittel. Die Rinde der Oozyten kann unter dem Einfluß dieser Mittel sogar negativ doppelbrechend werden. Die Rinde der reifen Eier ist höchstens 1 μ dick. Aus diesen Befunden müssen wir schließen, daß die Eirinde eine submikroskopische Struktur besitzt⁵. Sie ist aus miteinander abwechselnden Eiweißfolien und Lipoidlamellen aufgebaut. Die stabförmigen Lipoidmoleküle sind senkrecht zur Oberfläche und die fadenförmigen Polypeptidketten der Eiweiße sind tangential in allen möglichen Richtungen angeordnet. Sowohl auf dem animalen als auch auf dem vegetativen Pol des Seeigeleies befindet sich eine kleine Papille, deren Basis zwischen gekreuzten Nikols lebhaft als eine kurze, gerade, relativ stark doppelbrechende Linie aufleuchtet (RUNNSTRÖM, MONNÉ und WICKLUND). Auf den beiden Polen muß also die Eirinde eine etwas abweichende Struktur besitzen. Die Doppelbrechung und Struktur der Eirinde können durch starkes Zentrifugieren nicht verändert werden. Es ist anzunehmen, daß innerhalb der Eirinde die Polypeptidketten einzeln verlaufen und nicht, wie im Entoplasma, in Bündeln angeordnet sind. Eine, in bezug auf den Radius positive Doppelbrechung konnte, nach Ausschaltung aller störenden Faktoren, auch an der Oberfläche der Spermatozyten und Spermatiden von *Lithobius forficatus* sowie von einigen Pulmonatenarten, mit einem empfindlichen Glimmerkompensator festgestellt werden. Die erwähnte Doppelbrechung, kann nur von den radial orientierten Lipoidmolekülen verursacht sein. In der Rinde hämolysierter (SCHMITT,

BEAR und PONDER) und lebender (MONNÉ) Erythrozyten konnte auch eine durch Lipoide verursachte Doppelbrechung nachgewiesen werden. Durch Mikroinzineration konnte festgestellt werden, daß die Oberfläche vieler Zellen sehr reich an Kalzium und Magnesium ist (SCOTT u. a.). Außerdem konnte Adenylnukleinsäure in der Rinde des Zytoplasmas gefunden werden (LUNDEGÅRDH und STENLID). Es ist möglich, daß in der Plasmamembran die Phosphorsäuregruppen der Phosphatide und der Nukleinsäuren durch die zweiwertigen Kalziummoleküle miteinander zusammengehalten werden.

Das Zytosoma besteht aus der Rinde und aus dem Entoplasma. Es ist noch nicht entschieden, ob die selektiv permeable Plasmamembran mit der ganzen Rinde oder nur mit der äußeren Schicht dieser Rinde identisch ist. Jedenfalls muß die Rinde des Zytosomas von den äußeren Hüllen der Zelle unterschieden werden. Die letzteren können nämlich entfernt werden, ohne daß dabei die Zelle abgetötet wird (CHAMBERS; RUNNSTRÖM, MONNÉ und BROMAN). Die Rinde kann dagegen nicht zerstört werden, ohne daß dabei das Leben der ganzen Zelle vernichtet wird. Die Rinde muß also als ein integrierender Bestandteil des lebenden Zytosomas aufgefaßt werden. Es muß schließlich hervorgehoben werden, daß die Rinde gegen das Entoplasma scharf abgegrenzt ist. Die beiden Bestandteile des Zytosomas sind deutlich voneinander verschieden.

Die in der Rinde konzentrierten Lipoide erklären sehr gut die bekannte Tatsache, daß die Zelle sehr leicht von den lipoidlöslichen, nicht aber von den lipoidunlöslichen Stoffen überflutet wird. Darauf beruht die passive Permeabilität, welche heute schon ziemlich gut bekannt ist. Die Zelle ist jedoch auch imstande, zahlreiche lipoidunlösliche Stoffe, welche für das Leben notwendig sind, aufzunehmen. Das ist die aktive Permeabilität (Lit. bei HÖBER), welche sehr eng mit dem Stoffwechsel verbunden ist. Energie ist notwendig zur Aufnahme der lipoidunlöslichen Stoffe. Auf welche Weise diese Stoffe aufgenommen werden, ist heute so gut wie unbekannt. Auf diesem Gebiete sind wir auf reine Hypothesen angewiesen. Man hat angenommen, daß die Permeabilität der Zelle durch temporäre «Durchlöcherung» der lipoidhaltigen Plasmamembran erhöht wird (BERNSTEIN; HÖBER¹). Man

¹ Die einzelnen Arbeiten konnten nur in beschränktem Maße erwähnt werden. Die wichtigste Literatur kann in den angeführten Schriften gefunden werden.

² Wenner-Grens-Institut für experimentelle Biologie an der Universität in Stockholm und Zoologische Station der Akademie der Wissenschaften in Kristineberg.

³ L. MONNÉ, Arkiv Zoologi (Stockholm) 36 A, 23 (1945).

⁴ A. MONROY, Exper. I, 335 (1945).

⁵ Die Literatur über die Doppelbrechung des Protoplasmas ist bei W. J. SCHMIDT, Erg. Physiol. 44 (1941) zusammengefaßt.

¹ R. HÖBER, Physikalische Chemie der Zelle, 1926.

kann sich etwa denken, daß innerhalb der lebenden Plasmamembran ein stellenweises, rhythmisches, sich sehr schnell wellenförmig fortpflanzendes Verschwinden und Wiederauftreten von Lipoidmolekülen stattfindet und daß dabei die lipoidunlöslichen Stoffe durch die temporär lipoidfreien Stellen hindurchgelassen werden. Auch ist es möglich, daß die Nukleinsäure-Kalzium-Phosphatid-Verbindungen der Plasmamembran sehr schnell abgebaut und wieder aufgebaut werden. Die dabei temporär auftretenden elektropositiven (Kalzium) und elektronegativen (Phosphorsäure) Gruppen könnten für die Absorption von Anionen und Kationen von Bedeutung sein. Man kann sich auch denken, daß die mit Lipoidmolekülen besetzten Polypeptidketten der Plasmamembran sich durch Faltung und Dehnung bewegen, so daß die Maschen zwischen ihnen bald größer und bald kleiner werden. Dadurch können verschiedene Stoffe eingesaugt und ausgestoßen werden. Für die erwähnten Prozesse muß natürlich Energie vom Stoffwechsel geliefert werden.

Das *Entoplasma* ist nicht so dicht strukturiert wie die Rinde. Über die Struktur des Protoplasmas wurde sehr viel diskutiert. Heute muß dieses Problem als definitiv gelöst gelten. Auch das undifferenzierte Zytoplasma hat eine *fibrilläre Struktur*. Das konnte auf folgende Weise einwandfrei bewiesen werden. Die Zytoplasmakomponenten verschiedener Eier wurden durch Zentrifugieren geschichtet. Die von allen Einschlüssen befreite Schicht des Grundzytoplasmas war jetzt doppelbrechend (MOORE und MILLER; PFEIFFER; MONNÉ). In diesem Fall konnte also die Doppelbrechung des Grundzytoplasmas sicher nicht von ihren doppelbrechenden Einschlüssen vorgetäuscht sein. Durch Zentrifugieren wurden die aus Polypeptidketten aufgebauten fibrillären Bestandteile des Grundzytoplasmas parallel orientiert und dadurch wurde ihre Doppelbrechung nachweisbar gemacht. Die Zellen werden durch derartige experimentelle Eingriffe nicht geschädigt. Auch durch Hypertonie (RUNNSTRÖM und MONNÉ) und Vitalfärbung kann eine Orientierung der Zytoplasmafibrillen herbeigeführt werden, ohne daß die Zelle irreversibel geschädigt wird. Die dabei auftretende Doppelbrechung des Grundzytoplasmas kann von derjenigen ihrer Einschlüsse unterschieden werden. Manchmal ist das Grundzytoplasma auch unter ganz normalen Bedingungen doppelbrechend.

In zahlreichen Fällen konnte festgestellt werden, daß Bündel von Zytoplasmafibrillen negativ doppelbrechend in bezug auf ihre Länge sind. Unter der Einwirkung lipoidlösender, aber nukleinsäurefixierender Mittel verschwindet die negative Doppelbrechung. Sie kann also nicht von der Ribonukleinsäure verursacht sein (MONNÉ). Es ist also offenbar, daß die negative Doppelbrechung von den stabförmigen Lipoidmolekülen, welche senkrecht zu den Polypeptidketten der Zytoplasmafibrillen orientiert sind, herrührt. Es über-

wiegt also die Doppelbrechung der Lipoide. Die Doppelbrechung der Eiweiße überwiegt in den Fällen, in welchen Bündel von Zytoplasmafibrillen sich als positiv doppelbrechend in bezug auf ihre Länge erweisen. Es sind natürlich auch Fälle möglich, in welchen sich die beiden Doppelbrechungen ungefähr die Waage halten, so daß die Zytoplasmafibrillen als isotrop erscheinen.

Die in lebenden Zellen durch polarisationsoptische Untersuchungen nachgewiesenen fibrillären Strukturen des Grundzytoplasmas sind unzweifelhaft, wenigstens zum Teil, mit denjenigen Fibrillen identisch, welche schon von zahlreichen älteren Autoren in fixierten Zellen beobachtet und als Fila, Spongioplasma usw. bezeichnet worden sind. Die durch Anhäufung und Zusammendrängung von Zytoplasmafibrillen entstandenen Strukturvergrößerungen sind in der Literatur als Ergastoplasma bekannt. Weiter unten werden Beweise angeführt, daß die Zytoplasmafibrillen als Bündel zahlreicher Polypeptidketten und nicht als einzelne Polypeptidketten aufzufassen sind. Es ist zweckmäßig, die Flüssigkeit, welche den Raum zwischen den Zytoplasmafibrillen erfüllt, als Enchylema zu bezeichnen. Dieser Ausdruck wurde schon von älteren Autoren benutzt. Im Enchylema, zwischen den Zytoplasmafibrillen liegen Mitochondrien, Dotterkörnchen und andere zelluläre Einschlüsse.

Von den Zytoplasmafibrillen wird nicht ein Netzwerk, sondern ein Geflecht gebildet (FLEMMING, RETZIUS, MONNÉ u. a.). Die Fibrillen sind nicht gleichmäßig im Zytoplasma verteilt. An den einen Orten des Zytoplasmas sind die Fibrillen dicht zusammengedrängt und an den anderen ist ihr Gefüge mehr oder weniger stark aufgelockert. Die Einschlüsse des Zytoplasmas, besonders die Mitochondrien sammeln sich an denjenigen Stellen, wo das Geflecht der Fibrillen stark aufgelockert ist. Einschlußfrei sind diejenigen Stellen, wo die Zytoplasmafibrillen dicht zusammengedrängt sind. Vom aufgenommenen Wasser werden die Zytoplasmafibrillen auseinander gedrängt. Unter der Einwirkung dehydrierender Mittel nähern sich die Zytoplasmafibrillen einander stark an und gleichzeitig wird das dazwischenliegende Enchylema, zusammen mit den in ihm suspendierten Einschlüssen (Mitochondrien, Pigment, Dotterkörnchen) ausgepreßt (RUNNSTRÖM; LINDAHL und ÖRSTRÖM; MONNÉ). Die bekannten Protoplasmaströmungen kommen dadurch zustande, daß an den einen Orten der Zelle Wasser von den Zytoplasmafibrillen abgegeben und an den anderen Wasser von ihnen aufgenommen wird. Die Zytoplasmafibrillen fließen in einer Richtung und das Enchylema zusammen mit den Mitochondrien in der entgegengesetzten. Während der Zellteilung fließen die Zytoplasmafibrillen zu den Polen und das Enchylema (MONNÉ) mit den Mitochondrien (SPEK, BÉLAŘ) zum Äquator der Teilungsspindel. Während der Spermatozytenteilungen einiger Dipterenarten werden die Mito-

chondrien sehr genau im Äquator angesammelt (POLUSZYNSKI).

In den meisten runden Zellen liegen die Zytosplasmafibrillen unregelmäßig in allen Richtungen des Raumes. In manchen Fällen, insbesondere in kleinen, runden Zellen, haben die Zytosplasmafibrillen auch unter normalen Bedingungen eine gewisse Neigung, sich hauptsächlich tangential anzurichten. In differenzierten Zellen ist die Orientierung der Zytosplasmafibrillen verschiedenartig, und sie ist unzweifelhaft von der Gestalt der betreffenden Zellen abhängig. Auf der Kernmembran bildet sich bisweilen eine relativ dicke, aus tangential orientierten Zytosplasmafibrillen entstandene Hülle. Die Kernmembran ist immer negativ, die Hülle entweder isotrop oder positiv doppelbrechend in bezug auf den Radius. Die erwähnte Hülle darf jedoch nicht mit der äußeren Rinde des Zytosplasmas verglichen werden. In der ersten sind Bündel von Polypeptidketten, in der letzteren einzelne Polypeptidketten tangential angeordnet.

Eine mikroskopisch nachweisbare Querstreifung haben die Chromosomen, die Myofibrillen quergestreifte Muskeln, und, wie wir weiter unten sehen werden, auch die Zytosplasmafibrillen. Die Chromosomen bestehen aus thymonukleinsäurehaltigen und thymonukleinsäurefreien Abschnitten, welche regelmäßig miteinander abwechseln. Es wurde schon von zahlreichen älteren Autoren (z. B. RETZIUS) beobachtet, daß in den Zytosplasmafibrillen winzige Körnchen in gleichen Abständen voneinander eingebettet sind. Es wird allgemein angenommen, daß in den isotropen Abschnitten der quergestreiften Muskeln die Polypeptidketten gefaltet und in den anisotropen Abschnitten gestreckt und parallel zueinander orientiert sind (Lit. bei FREY-WYSSLING¹). Mit dem Elektronenmikroskop konnte eine submikroskopische Querstreifung auch in anderen Eiweißfibrillen entdeckt werden, und zwar in Kollagenfibrillen, in glatten Muskelfibrillen (SCHMITT, HALL und JAKUS, SCHMITT) und an Spermiumschwänzen (HARVEY und ANDERSON). In sehr stark gestreckten Sehnen kann die Querstreifung stellenweise auch im gewöhnlichen Mikroskop gesehen werden. Die Streifen weichen nämlich so weit voneinander, daß sie die Auflösungsgrenze dieses Mikroskops überschreiten. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß alle Eiweißfibrillen eine mikroskopische oder submikroskopische Querstreifung besitzen, welche darauf beruht, daß Abschnitte mit gefalteten und gestreckten Polypeptidketten regelmäßig miteinander abwechseln. Das trifft wahrscheinlich für die Chromosomen (PFEIFFER) und für die Zytosplasmafibrillen zu.

Schon am Anfang dieses Jahrhunderts war man der Meinung, daß im Zytosplasma chromatinähnliche Körperchen, welche als Chromidien bezeichnet wurden, vorkommen (R. HERTWIG). Die Chromidialhypothese

wurde besonders von GOLDSCHMIDT weiterausgebaut. Ebenso glaubte man, daß Nukleinsäure nicht allein im Zellkern, sondern auch im Zytosplasma vorkommt und VAN HERWERDEN hat dafür einen Beweis, welcher noch heute unanfechtbar ist, erbracht. Trotzdem hat sich diese Erkenntnis in der Wissenschaft nicht durchsetzen können, offenbar deshalb, weil man glaubte, daß die Eigenschaften der Nukleinsäuren, welche im Chromatin des Zellkerns und in den Chromidien des Zytosplasmas vorkommen, dieselben sein müssen. Heute wissen wir, daß das nicht der Fall ist. Ultraviolette Strahlen von der Wellenlänge 2600 Å werden sowohl von der Feulgen-positiven Thymonukleinsäure als auch von der Feulgen-negativen Ribonukleinsäure intensiv absorbiert. Dieselben Strahlen werden nicht nur von den Feulgen-positiven Chromosomen, sondern auch vom Feulgen-negativen Zytosplasma intensiv absorbiert (CASPERSSON; CASPERSSON, LANDSTRÖM-HYDÉN und AQUILONIUS u. a.). Von Pyronin werden die ribonukleinsäurehaltigen Komponenten ziemlich elektiv gefärbt, wenn man sich der von UNNA angegebenen Methode bedient. Das Zytosplasma verliert die Fähigkeit, sich mit diesem Farbstoff zu tingieren, wenn es zuvor mit dem Ferment Ribonuklease behandelt wird (BRACHET). Von der Ribonuklease wird nur die Ribonukleinsäure, nicht aber die Thymonukleinsäure zerstört. Im Zytosplasma kann also nur die Ribonukleinsäure, nicht aber die Thymonukleinsäure nachgewiesen werden. Die letztere kommt nur im Chromatin vor. Die Ribonukleinsäure ist im Zytosplasma nicht diffus verteilt, sondern an winzige Körnchen, welche mit den bekannten Chromidien identisch sind, gebunden. Die Chromidien sind nämlich Feulgen-negativ, sie färben sich ziemlich elektiv mit Pyronin, werden von der Ribonuklease angegriffen und absorbieren intensiv das ultraviolette Licht von der erwähnten Wellenlänge.

Von den älteren Autoren wurden als Chromidien nicht nur die Einzelchromidien, sondern vielfach auch chromidienhaltige Bündel von Zytosplasmafibrillen (Chromidialstränge) bezeichnet. Im vorliegenden Artikel sind unter der Bezeichnung Chromidien nur die winzigen Einzelchromidien, welche im ganzen Grundzytosplasma verstreut sind, gemeint. Die Chromidien können mit den Chromomeren der Chromosomen verglichen werden. Von den meisten älteren Autoren wurden die Chromidien mit den Mitochondrien verwechselt. Nur wenige von ihnen machten hier eine Ausnahme. Heute ist es definitiv bewiesen, daß Chromidien und Mitochondrien zwei verschiedene Komponenten des Zytosplasmas sind. In zentrifugierten Seeigeleiern liegen Chromidien und Mitochondrien in verschiedenen Schichten. Die Mitochondrien lassen sich nicht mit Pyronin färben (MONNÉ) und ultraviolette Strahlen werden von ihnen nicht absorbiert (HARVEY und ANDERSON; LAVIN und POLLISTER). Sie können also nur unbedeutende Mengen von Ribonukleinsäure enthalten. Die Chromidien können in fixierten zentri-

¹ A. FREY-WYSSLING, Protoplasma Monogr. 15 (1938).

fugierten Seegeleieren in derjenigen Schicht, welche dem scheinbar einschlußfreien Grundzytoplasma lebender Eier entspricht, nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu den Mitochondrien absorbieren sie das ultraviolette Licht (HARVEY und ANDERSON) und färben sich mit Pyronin. Auch aus den Arbeiten CLAUDES geht es unzweideutig hervor, daß Chromidien und Mitochondrien verschieden voneinander sein müssen.

Lebende, zentrifugierte Seegeleier wurden unter Zuhilfenahme des Phasenkontrastkondensors von ZEISS untersucht. Innerhalb des Grundzytoplasmas konnten keine Chromidien gesehen werden (MONNÉ). Auch im Dunkelfeld sind sie in unbeschädigten Zellen unsichtbar. Die Mitochondrien sind dagegen in beiden Fällen sehr gut sichtbar. Seegeleier wurden in Bouin-Lösung fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt. In solchen Präparaten erscheinen die Chromidien als winzige, hart an der Auflösungsgrenze des Mikroskops liegende Körnchen. Die gefärbten Chromidien können also kaum größer als $0,2 \mu$ sein. Die Chromidien treten deutlich als einzelne Körperchen hervor, da sie nicht dicht gepackt sind und im gefärbten Zustande das Licht stark absorbieren. Unzweifelhaft sind sie durch Adsorption des Farbstoffes bedeutend größer geworden. Wir dürfen wohl annehmen, daß die Chromidien im ungefärbten Zustand kaum größer als $0,1 \mu$ sind. Man kann deutlich sehen, daß die Chromidien durch Fäden miteinander verbunden sind. Die Chromidien sind in zentrifugierten Seegeleieren in der Grundzytoplasmenschicht, in welcher auch die Doppelbrechung erscheint, am stärksten zusammengedrängt. Durch Zentrifugieren können die Chromidien von den doppelbrechenden Zytoplasmafibrillen nicht getrennt werden. Die Chromidien bilden einen integrierenden Bestandteil dieser Fibrillen. Die Zytoplasmafibrillen sind also aus den ribonukleinsäurehaltigen Chromidien und aus den ribonukleinsäurefreien Interchromidien, welche regelmäßig miteinander abwechseln, aufgebaut. Die Zytoplasmafibrillen haben also einen ähnlichen Bau wie die Chromonemata, aus welchen die Chromosomen zusammengesetzt sind. Die Chromonemata unterscheiden sich von den Zytoplasmafibrillen nur dadurch, daß die ersten Thymo- und die letzteren Ribonukleinsäure enthalten. Es konnte festgestellt werden, daß die Doppelbrechung der Zytoplasmafibrillen von der Ribonukleinsäure nicht beeinflußt wird (MONNÉ). Daraus wurde geschlossen, daß die Ribonukleinsäuremoleküle ungeordnet sind, und zwar deshalb, weil sie nur an die gefalteten Anteile der Polypeptidketten angeschmiegt sind. Die gestreckten Nukleinsäuremoleküle können nicht senkrecht, sondern nur parallel zu den Polypeptidketten orientiert sein (SCHMITT). Allem Anschein nach bestehen die Zytoplasmafibrillen, ebenso wie andere Eiweißfibrillen, aus Abschnitten mit gestreckten und gefalteten Polypeptidketten, welche regelmäßig miteinander abwechseln. In den Chromidien sind die Polypeptidketten gefaltet, in den Interchromidien ge-

streckt. Ribonukleinsäure ist nur an die gefalteten Polypeptidketten gebunden.

Die Interchromidien sind bedeutend dünner als die Chromidien. Die letzteren sind vielleicht zweimal so dick als die ersten. Wir dürfen wohl annehmen, daß die Interchromidien ca. $0,05 \mu$ dick sind. Ebenso dick sind die Elementarfibrillen, in welche Spermiumschwänze schon von BALLOWITZ zerlegt worden sind. So dünne Fibrillen können im gewöhnlichen Mikroskop gesehen werden, da ihre Länge oberhalb seiner Auflösungsgrenze liegt. Neulich wurden diese Elementarfibrillen mit dem Elektronenmikroskop untersucht (SCHMITT¹); HARVEY und ANDERSON). Die Elementarfibrillen müssen als ein wichtiges submikroskopisches Strukturelement betrachtet werden, da ihre Dicke und Anzahl per Spermiumschwanz sehr konstant ist. Die Zytoplasmafibrillen können also mit den Elementarfibrillen der Spermiumschwänze verglichen werden. Derartige Elementarfibrillen können aus 2000 parallelen Polypeptidketten bestehen, wenn die letzteren ebenso dicht gepackt sind wie im Myosin (Lit. über Myosin bei WEBER).

Allem Anschein nach bestehen alle Eiweißfibrillen aus Abschnitten mit gestreckten und gefalteten Polypeptidketten, welche regelmäßig miteinander abwechseln. Nur diejenigen Fibrillen, welche wachsen und sich durch Teilung vermehren, enthalten Nukleinsäure in den Abschnitten mit gefalteten Polypeptidketten. Nukleinsäure ist zur Eiweißsynthese notwendig (CAS-PERSSON, BRACHET). Nur in Anwesenheit von Nukleoproteiden kann ein Wachstum erfolgen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Zytoplasmaciweiß von den Chromidien synthetisiert wird. Die Chromidien sind Zentren des Zytoplasmawachstums. Sie können sich durch Teilung vermehren. Es ist möglich, daß die Interchromidien zwischen zwei Tochterchromidien auf eine ähnliche Weise gebildet werden, wie die Teilungs纺del zwischen zwei Tochterzentrosomen, und daß die Zytoplasmafibrillen auf diese Weise verlängert werden. Die erwähnten Fibrillen werden während der Zellteilung quer durchschnitten. Es ist noch nicht entschieden, ob sich die Zytoplasmafibrillen auch in der Längsrichtung teilen können. Die Chromidien sind in lebhaft wachsenden Zellen sehr reich an Ribonukleinsäure, ihr isoelektrischer Punkt sinkt und deshalb sind sie relativ stark basophil. In ausgewachsenen Zellen sind die Chromidien arm an Ribonukleinsäure, ihr isoelektrischer Punkt steigt und deshalb sind sie relativ stark azidophil.

Reife Eier des Seeigels *Psammechinus miliaris* wurden einige Stunden mit einer 0,2-Mol.-Lösung von Natriumazid in Seewasser behandelt. In einer solchen Lösung können die Eier sehr lange verweilen, ohne daß Zytolyse eintritt. Nach kurzer Zeit seien die Eier so aus, als wenn sie mit einer starken hypertonischen

¹ F.O. SCHMITT, Advances in Protein Chemistry 1 (1944).

Salzlösung behandelt worden wären. Die später auftretenden strukturellen Veränderungen wurden an fixierten Präparaten untersucht (MONNÉ). Die Zytosplasmefibrillen legten sich parallel aneinander. Es

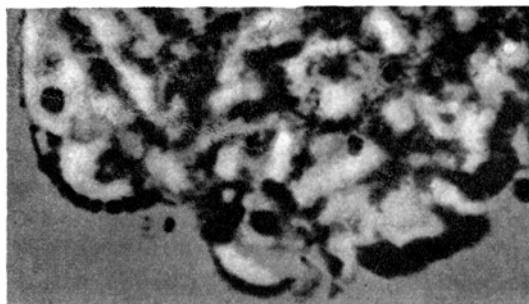


Fig. 1.

konnten alle Übergänge zwischen einzelnen Fibrillen und dünneren oder dickeren Fibrillenbündeln beobachtet werden. Im extremen Fall bildeten sich dicke, quer gestreifte Stränge (Fig. 1, 2), welche sehr lebhaft an die Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila* erinnerten. Es ist interessant, daß die ribonukleinsäurehaltigen Chromidien nur mit Chromidien und die ribonukleinsäurefreien Interchromidien nur mit Interchromidien so regelmäßig miteinander konjugieren. Die von den Fibrillen ausgeschiedene Flüssigkeit bildet einen Tropfen am Ende des Stranges (Fig. 4). An nicht genügend differenzierten Präparaten tritt die erwähnte Querstreifung nicht hervor (Fig. 3).

Aus zertrümmerten Zellen konnten winzige, als Makromoleküle bezeichnete Körperchen isoliert werden (STERN, CLAUDE, JEENER und BRACHET¹ u. a.). Es handelt sich hier um Moleküleaggregate, welche neben

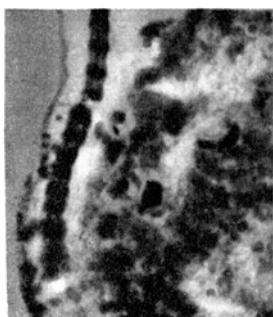


Fig. 2.

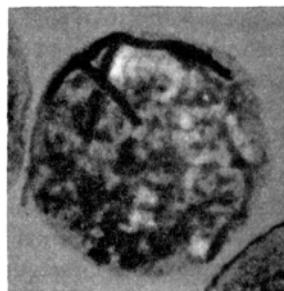


Fig. 3.

anderen Stoffen Eiweiße und Ribonukleinsäure enthalten. Ihre Größe schwankt zwischen 0,3 und 0,05 μ . Es unterliegt also kaum einem Zweifel, daß diese Körperchen mit den Chromidien identisch sind. Die kugelförmige Gestalt der Makromoleküle, welche auch keine Strömungsdoppelbrechung zeigen, kommt im Elektronenmikroskop zum Vorschein (STERN). Das stimmt

¹ J. BRACHET, Ann. Soc. Roy. Belg. 73 (1943).

ausgezeichnet mit der oben mitgeteilten Tatsache, daß die Doppelbrechung des Zytoplasmas von der Ribonukleinsäure der Chromidien nicht beeinflußt wird. Wir haben also wirklich zuverlässige Beweise dafür, daß in den Chromidien die Ribonukleinsäuremoleküle ungeordnet und die Polypeptidketten gefaltet sind.

Nicht nur isotrope, sondern auch doppelbrechende Stoffe konnten aus zertrümmerten Zellen isoliert werden (SZENT GYÖRGYI, BRACHET und JEENER¹; HOERR u. a., Literatur bei SCHMITT). Reinigung und genauere Untersuchung dieser Stoffe ist erwünscht, da die bisherigen Resultate noch sehr widersprechend sind. Jedenfalls stammen diese Stoffe zum Teil aus dem Kern und zum Teil aus dem Zytosoma. Es ist sogar gelungen, Chromosomen oder chromosomenähnliche Körper aus gewöhnlichen Ruhekernen und Spermiumköpfen zu isolieren (CLAUDE und POTTER²;



Fig. 4.

MIRSKY und POLLISTER). Die erwähnten Stoffe enthielten Thymonukleinsäure und waren doppelbrechend.

Allem Anschein nach können die Zytosplasmefibrillen in Chromidien und Interchromidien zertrümmert werden. Die letzteren sind unter den doppelbrechenden Zellextrakten zu suchen. Es ist eine alte, bekannte Tatsache, daß quergestreifte Muskeln nicht nur in der Längsrichtung gespalten, sondern auch in der Querrichtung in anisotrope (BOWMANSche Scheiben) und isotrope Abschnitte zerlegt werden können. Vielleicht wird es in Zukunft gelingen, auch andere Eiweißfibrillen in Abschnitte mit gestreckten und gefalteten Polypeptidketten zu fragmentieren.

Die mit den Chromidien identischen Makromoleküle enthalten Eiweißstoffe, welche reich an SH-Gruppen sind, Kalzium und Magnesium, Ribonukleinsäure, Phosphatide, alle Atmungsenzyme und zahlreiche Hydrolasen (STERN, CLAUDE, JEENER und BRACHET; BARRON³ u. a.). Durch Untersuchungen, welche an

¹ R. JEENER und J. BRACHET, Acta biol. Belg. 4 (1941, 1942).

² A. CLAUDE und J. S. POTTER, J. exp. Med. 77 (1943).

³ BARRON, BENSLEY, HOERR, SCHMIDT, STERN sowie die Übersichten anderer Autoren in Biol. Symposia 10 (1943).

veraschten mikroskopischen Präparaten ausgeführt worden sind (SCOTT, KRUSZYŃSKI), konnte festgestellt werden, daß Kalzium und Magnesium in allen Zellkomponenten, welche reich an Thymo- oder Ribonukleinsäure sind, in großer Menge vorkommen. Die schon von WARBURG aus zertrümmerten Zellen isolierten, atmenden Körperchen sind nichts anderes als Chromidien. Es ist möglich, aber noch nicht erwiesen, daß gebundenes Glykogen an die Chromidien geknüpft ist. Das freie Glykogen muß natürlich zwischen den Zytosplasmafibrillen liegen. Es ist interessant, daß die Enzyme, welche den Stoffwechsel besorgen, nicht diffus zerstreut, sondern in bestimmten Körperchen konzentriert sind. Die Chromidien sind nicht nur Wachstums-, sondern auch Stoffwechselzentren des Zytosplasmas.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Aktivität der Atmungsenzymsysteme (Chromidien) im isolierten Zustand viel höher ist als in intakten Zellen. Die Zelle ist also imstande, ihre Enzymaktivität zu kontrollieren (BARRON). Es unterliegt kaum einem Zweifel, daß diese Kontrolle durch die Lipoide, welche mit polarisationsoptischen Methoden im ganzen Zytosplasma nachgewiesen werden können, ausgeübt wird. Bei der Zertrümmerung der Zelle geht ein bedeutender Teil der Lipoide verloren und deshalb steigt die Aktivität der isolierten Atmungsenzymsysteme. Zytolysierte Eier können bisweilen stärker atmen als lebende (WARBURG). Bei der Zytolyse werden bekanntlich die Bindungen zwischen Eiweißen und Lipoiden gesprengt. Dasselbe geschieht in beschränktem Maße in geschädigten Zellen, bei welchen auch tatsächlich ein Emporschneiden der Atmung beobachtet worden ist (BROCK, DRUCKREY und HERKEN). Das befruchtete Seegelei atmet bekanntlich intensiver als das unbefruchtete. Der Zustand der Lipoide wird bei der Befruchtung verändert (RUNNSRÖM, ÖHMAN). Lebende Zellen können von proteolytischen Enzymen nicht angegriffen werden. In zytolysierten Zellen werden dagegen diese Enzyme aktiv, und es tritt Autolyse ein. Schon BIEDERMANN war der Meinung, daß die Eiweiße der Zelle durch Lipoide vor den erwähnten Enzymen geschützt sind.

Die Oberflächen der in den Chromidien zusammengedrängten Atmungsenzyme und Hydrolasen sind von Lipoidmolekülen besetzt. Auf diese Weise werden die Enzyme von ihren Substraten ferngehalten. Bei der Reizung werden allem Anschein nach die Lipoide von der Enzymoberfläche verdrängt. Das Enzym kann jetzt mit seinem Substrat in Berührung kommen und es wird eine chemische Reaktion, welche zu irgendeinem physiologischen Prozeß führen kann, ausgelöst. Die Lipoide spielen hier eine ähnliche Rolle wie die lipidlöslichen Narkotika in den Experimenten WARBURGS. Oxalsäure wird an der Oberfläche von Blutkohle zu CO_2 und Wasser oxydiert. Wenn die Oberfläche der Kohle von den Molekülen des Narkotikums besetzt

wird, so können die Oxalsäuremoleküle mit der Kohle nicht in Berührung kommen und die Oxydation wird gehemmt.

Manches spricht dafür, daß in den Chromidien die Phosphorsäuregruppen der Phosphatide und der Nukleinsäure durch die zweiwertigen Kalziumatome miteinander verbunden werden. Wenn wir annehmen, daß bei der Reizung diese Verbindung irgendwie zersetzt wird, so muß Kalzium frei werden, was auch tatsächlich von HEILBRUNN u. a. nachgewiesen worden ist. Außerdem ist es bekannt, daß Kalzium zur Aktivierung der Adenosintriphosphatase notwendig ist, und daß damit die chemische Reaktionskette beginnt, welche zur Phosphorylierung, zum Abbau von Glykogen, zur Glykolyse und schließlich zur aeroben Oxydation (Atmung) führt. Die Adenosintriphosphatase, welche in zahlreichen Zellen gefunden worden ist, soll in quer gestreiften Muskelzellen mit dem Myosin identisch sein (Literatur bei POTTER¹). Es ist also möglich, daß in anderen Zellen die Adenosintriphosphatase in den Interchromidien zu suchen ist.

Die Chromidien sind miteinander durch Interchromidien in langen Ketten zusammengefügt, und deshalb ist eine gegenseitige Beeinflussung der sich in den einzelnen Chromidien abspielenden Stoffwechselprozesse möglich. Die Zytosplasmafibrillen dienen zweifellos auch zur Reizleitung. Es ist möglich, daß die Nukleinsäure-Kalzium-Phosphatid-Verbindung sehr schnell und rhythmisch auf- und abgebaut wird, und daß sich diese Veränderung wellenförmig längs der Zytosplasmafibrillen ausbreitet. Derartige Prozesse müssen natürlich von bioelektrischen Strömen begleitet sein. Das temporäre Auftreten von positiven und negativen Ladungen an den Zytosplasmafibrillen kann, ebenso wie die bekannten Strömungen, für das Hineinwandern der an der Zelloberfläche adsorbierten Anionen und Kationen von Bedeutung sein. In diesem Zusammenhang muß an LILLIES² Modell der Nervenleitung und an die von VON MURALT ausgesprochene Idee, daß bei der Nervenleitung ein «Umkappen» des Cholinarms der Phosphatidmoleküle stattfindet, erinnert werden. Es ist also möglich, daß jede Reizung auf einer rhythmischen Zustandsänderung oder auf einem rhythmischen Abbau der Lipoide beruht, und daß dadurch die spezifischen Funktionen der Muskelkontraktion, Nervenleitung, Zilienbewegung, Resorption und Exkretion ausgelöst werden. Narkotika müssen diese Zustandsänderung der Lipoide irgendwie verhindern.

Struktur und Funktion des Zytosplasmas sind innig miteinander verknüpft. Es wird zwischen Ruheatmung und Erregungsatmung unterschieden. Die erste liefert die Energie, welche zur Aufrechterhaltung der normalen Zellstruktur notwendig ist (RUNNSTRÖM). Die letztere liefert die Energie, durch welche die jeden Funktionsverlauf begleitenden, mikroskopischen und

¹ V. R. POTTER, Advances in Enzymol. 4 (1944).

² E. COWDRY, General Cytology (1924).

submikroskopischen Strukturveränderungen herbeigeführt werden. Die Fibrillen differenzierter Gewebe entstehen allem Anschein nach aus den undifferenzierten Zytosplasmafibrillen, und deshalb kann in allen derselben Bauplan erkannt werden.

Die Chromidien haben die Eigenschaften der seit langem theoretisch postulierten «Biogenmoleküle» (HERMANN, PFLÜGER, VERWORN u. a.). Sie wachsen, sie vermehren sich durch Teilung, sie haben einen Stoffwechsel und allem Anschein nach auch eine gewisse Irritabilität. Sie haben alle Haupt-eigenschaften lebender Wesen. Nur sind sie keine Einzelmoleküle, sondern Molekülkomplexe. Virus hat nur eine dieser Eigenschaften, es wächst und vermehrt sich, aber es atmet nicht und hat auch keine Irritabilität.

Nicht nur Chromidien, sondern auch *Mitochondrien* konnten aus zertrümmerten Zellen isoliert werden (BENSLEY, HOERR, CLAUDE, DITTMAR u. a.). Man glaubt, in den Mitochondrien bedeutende Mengen von Ribonukleinsäure gefunden zu haben. Das ist aber unvereinbar mit der Tatsache, daß in fixierten Zellen das ultraviolette Licht von den Mitochondrien kaum absorbiert wird (HARVEY und ANDERSON) und deshalb fühlt man sich zur Annahme genötigt, daß die Präparate isolierter Mitochondrien noch stark mit Chromidialsubstanz verunreinigt sind.

In lebhaft wachsenden Zellen steigt nicht nur die Menge der in den Chromidien befindlichen Ribonukleinsäure (CASPERSSON u. a.), sondern auch die Masse des Golgi-Apparats und der Mitochondrien (Literatur bei HIRSCH¹), welche bekanntlich reich an Lipoiden sind. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Eiweiße von den Chromidien und die Lipide des Zytosplasmas von den Mitochondrien und vom Golgi-Apparat synthetisiert werden. Die Mitochondrien enthalten neben Phosphatiden auch große Mengen von Cholesterin (DITTMAR). Allem Anschein nach wird das Cholesterin von den Mitochondrien und die Phosphatide mit ungesättigten Fettsäuren hauptsächlich vom Golgi-Apparat synthetisiert. Die von den beiden Plasmakomponenten gebildeten Lipide können sich nun längs der Fibrillen gleichmäßig über das ganze Zytosplasma ausbreiten. Auf diese Weise können die während der Zellfunktion (besonders Reizung) verbrauchten Lipide ersetzt werden.

Große Mengen von Cholesterin und Phosphatiden wurden aus isolierten Kernen extrahiert (STONEBOURGH). Merkwürdigerweise enthalten die Kernphosphatide nur gesättigte Fettsäurereste². Offenbar muß auch der Kern an der Lipidsynthese beteiligt sein (HANSTEEN-CRANNER, MONNÉ). Allem Anschein

nach werden die vom Kern gebildeten Lipide abgebaut und innerhalb des Golgi-Apparats und der Mitochondrien in die spezifischen zytosplasmatischen Lipide umgewandelt. Neulich ist es gelungen, an der Oberfläche der Nukleolen in lebenden Oozyten einiger Tierarten, mit einem empfindlichen Glimmerkompensator, nach Ausschaltung aller störenden Effekte, eine Doppelbrechung, welche positiv in bezug auf den Radius ist, festzustellen (MONNÉ). Diese Doppelbrechung ist wahrscheinlich von den stabförmigen, radial orientierten Lipoidmolekülen verursacht. Der Kern muß auch als Zentrum des Eiweißstoffwechsels aufgefaßt werden (CASPERSSON).

Die Mitochondrien und der Golgi-Apparat haben sicher eine Reihe verschiedener Funktionen. Ihre Fähigkeit, verschiedene Stoffe zu speichern, ist allgemein bekannt. Auf diese Weise können sie das Grundzytosplasma vor Beschädigung durch die erwähnten Stoffe schützen. Die Mitochondrien sind bekanntlich sehr empfindlich gegen Änderungen der osmotischen Verhältnisse. Sie können vielleicht das Grundzytosplasma durch Aufnahme des Überschusses an Wasser vor Beschädigung schützen. Die Mitochondrien sind nicht an die Zytosplasmafibrillen gebunden und deshalb können sie sich zwischen ihnen frei bewegen. Die Mitochondrien enthalten Glutathion (JOYET-LAVERGNE) und deshalb können sie zur Regeneration der SH-Gruppen der Chromidien beitragen, sie enthalten Ascorbinsäure (BOURNE¹) und deshalb können sie Hydrolasen aktivieren (Literatur bei GIROUD), sie enthalten Amylase (HOLTER und DOYLE) und deshalb können sie Kohlehydrate abbauen.

Die Substanz, welche im Zellkern die Lücken zwischen den Chromosomen erfüllt, ist heute noch sehr wenig bekannt. Einige Autoren (z. B. JÖRGENSEN) haben zwischen den Chromosomen ein Netzwerk von dünnen Fibrillen, in welchen winzige, intensiv färbbare Körnchen eingebettet sind, beobachtet. Dieses Fibrillensystem kann in den Oozytenkernen der Seeigel wiedergefunden werden. Das Problem, ob auch im Zellkern die Enzyme (Atmungsenzyme, Hydrolasen) an bestimmte Körperchen, etwa an die Chromomeren oder an die Körnchen des erwähnten Fibrillensystems, gebunden sind, ist noch nicht gelöst.

Summary

The cytoplasm consists of the cortex and the endoplasm. The rather thin cortex is built up by protein leaflets and lipid lamellae. The endoplasm is a structure of fibrils forming a dense network. The fibrils, composed of chromidia and interchromidia must be considered as a bundle of polypeptide chains. They are about of the same size as the elementary fibrils in the tail of the spermatozoa. The chromidia show all the main properties of what has been called theoretically "biogen-molecule." They are centers of growth and metabolism of the cytoplasm. The different functions of the various components of the plasm are considered.

¹ G. CH. HIRSCH, Protoplasma Monogr. 18 (1939).

² Daraus dürfen wir schließen, daß eine direkte und elektive Beeinflussung der Kernfunktion nur von solchen Substanzen zu erwarten ist, welche schwach löslich in Phosphatiden mit ungesättigten Fettsäureresten, aber stark löslich in Cholesterin und in Phosphatiden mit gesättigten Fettsäureresten sind. Nur solche Substanzen können elektiv vom Kern gespeichert werden.

¹ G. BOURNE, Cytology and Cell Physiology (1942)