

etwas größere Untergrundschwärzung und eine wenig verminderte Intensität der Interferenzen auf (Abb. 5).

Um die beiden Diagramme in bezug auf die Intensität der Reflexe und der Untergrundschwärzung miteinander vergleichen zu können, mußten zu ihrer Herstellung sorgfältig gleiche Versuchsbedingungen eingehalten werden. Die Präparate wurden zu Stäbchen von übereinstimmender Breite und Schüttdicke gepreßt, in gleicher Kamera mit derselben Intensität der Strahlung während gleichen Zeiten geröntgt und schließlich die Filme gleich entwickelt und photometriert.

Dieses Ergebnis kann so gedeutet werden, daß bei der angewandten Behandlung der Zellulose mit verdünnter Schwefelsäure, mikellenverknüpfende amorphe Anteile entfernt werden. Da der Diagrammunterschied, trotz einem Substanzverlust von nur 8%, erhalten wird, ist auch eine Rekristallisationserscheinung nicht auszuschließen<sup>1</sup>.

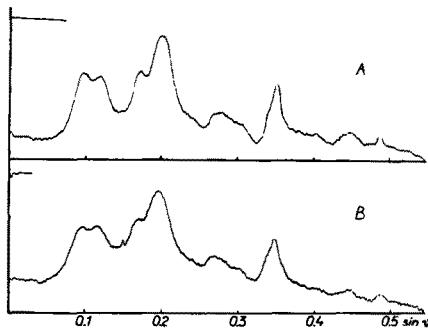


Abb. 5. Photometerkurven von Debye-Scherrer-Aufnahmen. A Hydrolysierte Baumwolle (2 Stdn. mit 2,5 n  $H_2SO_4$ ). B Native Baumwolle (desorientiert).

Vor kurzer Zeit haben HERMANS und WEIDINGER<sup>2</sup> durch Intensitätsmessungen an Röntgendiagrammen die kristallisierten Anteile in nativen und regenerierten Zellulosefasern quantitativ erfassen können. Für Baumwolle berechneten sie beispielsweise eine Kristallinität von 70%.

Die Auswertung der Debye-Scherrer-, Guinier- und Elektronenbeugungsaufnahmen der verschiedenen Mizellpräparate (mercerisierter und unmercerisierter Baumwolle und Holzzellulose) führte zu denselben Gitterdimensionen, wie sie bisher von mehreren Forschern aus den Faserdiagrammen der entsprechenden Zellulosen ermittelt wurden.

Besonders leicht sind die Hydrolyseprodukte der Elektronenbeugung zugänglich. Es werden scharfe linienreiche Diagramme erhalten, welche sich zur Auswertung besser als die Röntgenaufnahmen eignen.

Entsprechende Untersuchungen an Viskose sind im Gange. Wir können aber jetzt schon darauf hinweisen, daß bei der Einwirkung mit verdünnter Schwefelsäure auch hier, nach einer anfänglich raschen Depolymerisation, eine Anreicherung von Mizellen erfolgt. Aus der qualitativen Betrachtung der Röntgendiagramme geht hervor, daß die Dimensionen dieser kristallisierten Teilchen kleiner sein müssen. Kleinere Dimensionen erhielten HENGSTENBERG und MARK<sup>3</sup> auch bei der röntgenographischen Teilchengrößebeermittlung an Faserdiagrammen von Kunstseide. KRATKY<sup>4</sup> weist darauf hin,

daß die Größe dieser Mizellen stark von den Herstellungsbedingungen der Faser abhängt.

Prof. THE SVEDBERG danken wir für wertvolle Diskussionen und sein reges Interesse, das er unserer Arbeit laufend entgegenbrachte.

Für die röntgenographischen Untersuchungen stellte uns Prof. GUNNAR HÄGG in liebenswürdiger Weise seine Röntgenapparate zur Verfügung. Wir möchten ihm wie auch seinen Mitarbeitern, welche uns stets in zuvorkommender Weise behilflich waren, bestens danken.

Schließlich danken wir auch den schwedischen Zellulosefirmen Billeruds AB, Mo och Domsjö AB, Stora Kopparbergs Bergslags AB, Svenska Cellulosa AB und Uddeholms AB für ihre großzügige finanzielle Unterstützung.

B. G. RÄNBY und ED. RIBI

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Uppsala, Schweden, den 25. August 1949.

### Summary

The frequency curves of many cellulose samples contain common maxima for DP-values of 70–100 and 200. After a strong degradation most of the cellulose accumulates at a DP of about 100. This tendency is shown to be caused by the crystallinity of the cellulose walls. The crystalline areas, the micelles, have been isolated as an aqueous colloidal solution, and in the electron microscope they are found to be rod-like particles with a length of 500–600 Å and a width of 50–100 Å. These results are in agreement with earlier X-ray investigations. Electron and X-ray diffraction studies have proved that the crystalline structure and the lattice dimensions of the isolated micelles are exactly the same as those of the fibre cellulose. After treatment with ultrasonic waves, an electron microscope investigation has demonstrated that the whole cellulose fibre is built up of elementary fibrils (micellar strings) of the same thickness as the micelles.

### Zum qualitativen Nucleoproteingehalt und zur Morphologie der Mitochondrien

(Phasenmikroskopische Untersuchungen)

Die Untersuchungen von OPIE und LAVIN<sup>1</sup> an gefärbten Schnitten und die von uns<sup>2</sup> früher mitgeteilten phasenmikroskopischen Befunde ergaben übereinstimmend mit den chemischen Untersuchungen von BENSLEY u. a., daß das Protein der Mitochondrien fast ausschließlich Ribonucleoprotein ist. MONNÉ<sup>3</sup> dagegen bestreitet das Vorkommen wesentlicher Mengen dieses Proteins in den Mitochondrien und glaubt, daß Verunreinigungen mit Chromidien zu falschen chemischen Resultaten geführt hätten. Es schien uns deshalb gegeben, Versuche mit Reinenzymen vorzunehmen, und zwar nach der von uns entwickelten Methode, wobei die Einwirkung unter phasenmikroskopischer Kontrolle der Mitochondrien durchgeführt werden kann. Wir hofften damit, einerseits den Einwurf von MONNÉ zu prüfen, und da anderseits gezeigt werden konnte<sup>2</sup>, daß das Mitochondrion zum mindesten aus zwei Komponenten, dem Körper und der Membran, besteht, interessierte uns weiter die Frage der Lokalisation des Nucleoproteins in diesen Elementen.

<sup>1</sup> F. C. BRENNER, V. FRIELLE und H. MARK, J. Amer. Chem. Soc. 70, 877 (1948), haben auf Grund von Dichtemessungen an hydrolysiertem Zellulose eine Rekristallisation angenommen.

<sup>2</sup> P. H. HERMANS und A. WEIDINGER, J. Applied Phys. 19, 491 (1948); J. Polymer Science 4, 135, 145 (1949).

<sup>3</sup> J. HENGSTENBERG und H. MARK, Z. Krist. 69, 271 (1928).

<sup>4</sup> O. KRATKY, Z. angew. Chem. 53, 153 (1940).

<sup>1</sup> E. L. OPIE und G. I. LAVIN, J. Exper. Med. 84, 107 (1946).

<sup>2</sup> H. U. ZOLLINGER, Amer. J. Pathol. 24, 569 (1948); Schweiz. Z. Pathol. 11, 617 (1948).

<sup>3</sup> L. MONNÉ, Exper. 2, 153 (1946).

Abb. 1 zeigt Mitochondrien von Mäusenieren in destilliertem Wasser aufgeschwemmt. Man kann deutlich den als Verdickung erscheinenden Mitochondriokörper und die teilweise von ihm abgehobene Mitochondriomembran erkennen.

Wird physiologische NaCl mit Zusatz von 1% kristalliner Desoxyribonuclease als primäres Suspensionsmedium gewählt und nachher destilliertes Wasser zu-

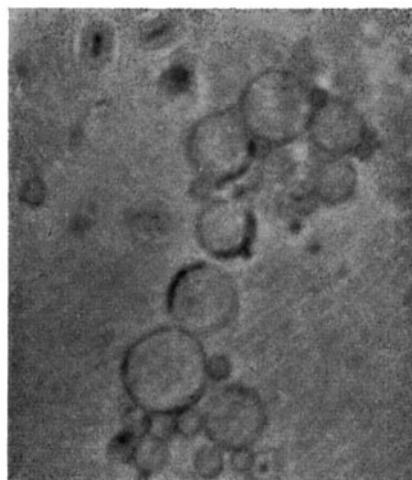


Abb. 1. Nierenmitochondrien in destilliertem Wasser aufgeschwemmt. Der Mitochondriokörper ist als scharf begrenzte Verdickung in der bläschenförmig abgehobenen Membran sichtbar. Phasenmikroskop, 1500mal.

gesetzt, so ergibt sich das in Abb. 2 dargestellte Bild: keines der beiden Mitochondrionelemente erscheint wesentlich verändert, jedoch neigen die Mitochondriobläschen dazu, zusammenzufließen und größere Blasen zu bilden. Immer sind aber die Einzelbläschen auch in

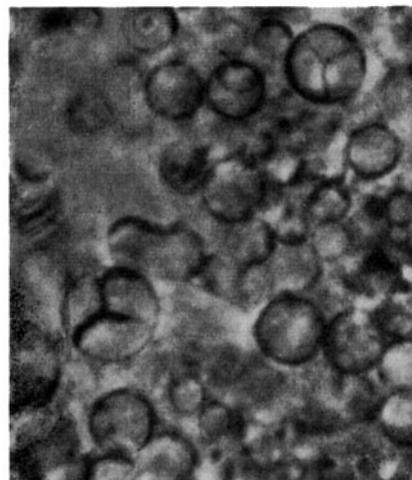


Abb. 2. Wie Abb. 1, jedoch nach vorherigem Zusatz von kristalliner Desoxyribonuclease: die Mitochondriokörper sind erhalten; durch das Zusammenfließen der Mitochondrien sind fußballähnliche Gebilde entstanden.

den größeren Gebilden als solche weiterhin erkennbar, insbesondere wird der Mitochondriokörper nicht verändert. Die so entstehenden großen Blasen erinnern sehr stark an das Bild eines aus Leder genähten Fußballes.

Enthält das primäre Suspensionsmedium 1% Ribonuclease an Stelle der Desoxyribonuclease, so bringt die künstliche Schwelung durch Wasser ein völlig anderes Bild hervor (Abb. 3): Der Mitochondriokörper ist nunmehr verschwunden, ohne daß eine Veränderung der Mitochondriomembran feststellbar wäre. Auch die oben erwähnte Neigung zum Zusammenfließen fehlt hier. Werden die drei Versuche bei erhöhter Temperatur (37°) durchgeführt, so sind die Ergebnisse dieselben. Von der Anwendung der von DAVIDSON<sup>1</sup> u. a. empfohlenen Puffer haben wir absehen müssen, da die Pufferlösungen im Kontrollversuch die Mitochondrien zu sehr alterieren.

Diese Resultate zeigen einmal, daß das Ribonucleoprotein des Mitochondriums tatsächlich im eigentlichen Mitochondriokörper lokalisiert ist. Die Membran dagegen enthält kein nachweisbares Ribonucleoprotein. Diese Feststellung steht vorerst in einem gewissen Gegensatz zur Ansicht von BOURNE<sup>2</sup>, welcher einen Ober-

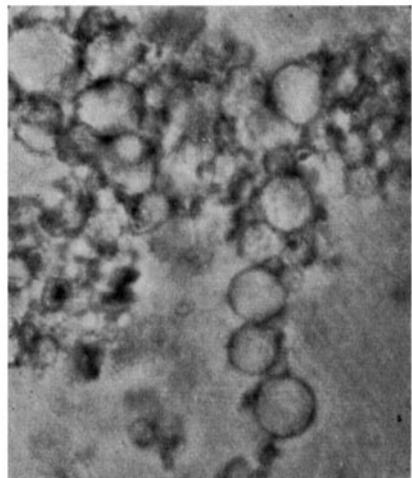


Abb. 3. Wie Abb. 1, nach vorherigem Zusatz von kristalliner Ribonuclease: die Mitochondriokörper sind verschwunden, die Mitochondriomembran ist erhalten geblieben.

flächenfilm aus Proteinfettsubstanz annehmen. Anderseits bestätigt sie den von den obengenannten Autoren angenommenen Reichtum des Gesamtmitochondriums an Ribonucleoprotein, denn im natürlichen, nicht geschwollenen Zustand bildet der Mitochondriokörper volumenmäßig den weit überwiegenden Hauptteil des Mitochondriums. Die Verunreinigungsthese von MONNE scheint uns durch die vorliegenden Resultate entkräftet zu sein. Es ist ohne weiteres verständlich, daß nach Auflösung des Mitochondriokörpers durch Ribonuclease die für Ribonucleoprotein typische Pyroninfärbung der Mitochondrien und die die Gesamtmasse des Mitochondriums färbende Heidenhain-Eisenhämatoxylinfärbung negativ ausfallen (RANDAEL<sup>3</sup>).

Das Resultat mit Desoxyribonuclease ist schwerer zu interpretieren. Es steht wohl sicher, daß die Mitochondrien keine wesentlichen Mengen von Desoxyribonucleoprotein enthalten, doch scheint es zum mindesten möglich, daß dieser Stoff in ganz geringen Mengen in der Mitochondriomembran vorhanden ist. Mit dieser Annahme könnte jedenfalls das Zusammenfließen der

<sup>1</sup> J. N. DAVIDSON, Cold Spring Harbor Symposia 12, 50 (1947).

<sup>2</sup> G. BOURNE, *Cytology and cell physiology* (Clarendon Press, Oxford, 1942).

<sup>3</sup> C. RANDAEL, C. R. Soc. Biol. 142, 392 (1948).

Mitochondrien nach Desoxyribonucleaseeinwirkung erklärt werden. Ferner hat diese Hypothese den Vorteil, den oben angeführten Widerspruch unserer Resultate zur Ansicht von BOURNE zu beheben, d.h. die Oberflächenmembran der Mitochondrien besteht nach dieser Annahme wohl aus Protein- und Fettsubstanzen, doch liegt statt Ribonucleoprotein vermutlich Desoxyribonucleoprotein vor.

H. U. ZOLLINGER

Pathologisches Institut der Universität Zürich, den 1. Oktober 1949.

#### Summary

The effect of desoxyribonuclease and ribonuclease on suspended mitochondria is examined phase-microscopically, making use of secondary mitochondrial swelling in distilled water. The ribonucleoprotein is localized only in the mitochondrial body. The latter disappears completely under the effect of ribonuclease. The membrane possibly contains very small amounts of desoxyribonucleoprotein next to lipid substances. The mitochondrial body on the other hand appears to be free of these substances.

#### Zur Morphologie der Mitochondrien

##### (Elektronenmikroskopische Untersuchungen)

In einer früheren Mitteilung haben wir über phasenmikroskopische Beobachtungen an Mitochondrien berichtet<sup>1</sup>. Hier soll vor allem untersucht werden, ob sich die von uns angewandte künstliche Schwelling der Mitochondrien in destilliertem Wasser auch bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen bewährt. Insbesondere interessierte uns die Frage der Darstellung der Mitochondrienmembran. Die technische Schwierigkeit liegt vor allem darin, daß im Elektronenmikroskop nur solide Körper untersucht werden können, d.h., daß die Suspension der Mitochondrien zuerst getrocknet werden muß. Die Technik der Mitochondriengewinnung für diese Versuche war folgende<sup>2</sup>: Die Nieren (3 g) von zwei mittelschweren Albinoratten wurden nach Entfernung der Kapsel im Apparat von POTTER und ELVEHJEM<sup>3</sup> mit 6 cm<sup>3</sup> isotonischem KCl homogenisiert, dann 15 Minuten bei 2000 g zentrifugiert, der Rückstand in 3 cm<sup>3</sup> isotonischem Mannit (5,75%) aufgenommen und unter den gleichen Bedingungen nochmals zentrifugiert. Der vor allem Gewebszähler, Zellkerne, Erythrozyten und Mitochondrien enthaltende Rückstand wurde 5 Minuten mit 1 cm<sup>3</sup> isotonischem Mannit zentrifugiert (2000 g). Das Überstehende, eine weiß-gelbliche homogene Suspension, enthielt vorwiegend die Mitochondrien. Zur besseren Reinigung zentrifugierten wir sie nochmals zusammen mit den restlichen Mitochondrien, die aus dem Rückstand durch zweimaliges Auswaschen gewonnen wurden und entfernten den kleinen, rotbraunen, festzitzenden Rückstand. Ein Tropfen dieser Mitochondriensuspension wurde auf dem Objektträgerfilm angetrocknet und nach der Methode von WILLIAMS und WYCKOFF<sup>4</sup> mit Chrom beschattet.

Die Abb. 1 und 2 lassen ein sehr ähnliches Bild erkennen, wie wir es in den phasenmikroskopischen Untersuchungen festgestellt haben, d.h. die künstlich ge-

schwellten Mitochondrien weisen erstens einen kontrastreichen Mitochondrienkörper auf, welcher in beiden Abbildungen exzentrisch gelegen ist und ferner erkennt man eine deutliche Mitochondrienmembran. Der Mitochondrienkörper wird infolge seiner Dicke von den

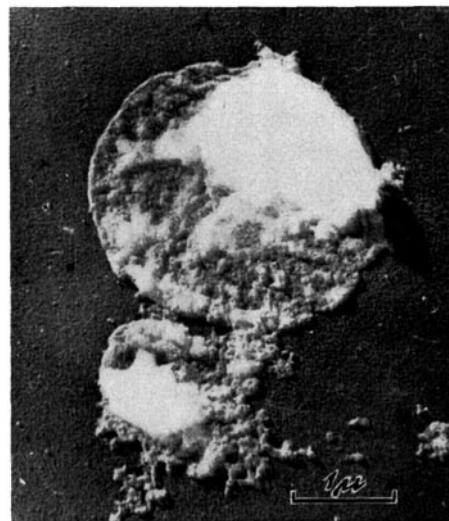


Abb. 1. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Mitochondrions: Die Membran ist teilweise durch den daraufliegenden Körper zugedeckt. Vergrößerung 14800mal.

Elektronen nicht mehr durchgestrahlt. Vereinzelte Überreste des Körpers auf der Membran (Abb. 1) zeigen nur, daß das Eiweiß eine im Elektronenmikroskop amorphe Struktur aufweist. Vermutlich ist dies auf seinen hohen Lipoidgehalt zurückzuführen. Im Gegen-

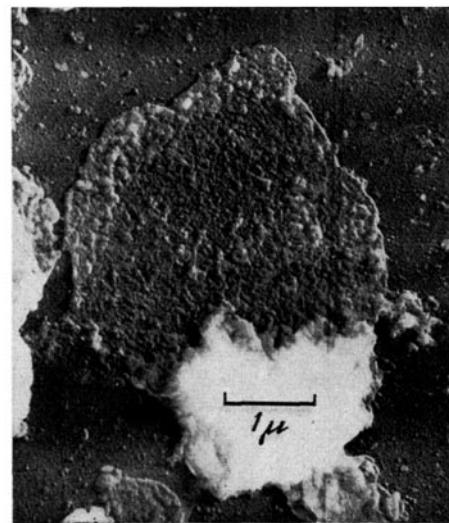


Abb. 2. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Mitochondrions: Der Körper (helle Zone) liegt am Rande der fein strukturierten Membran. Vergrößerung 12400mal.

satz zum Mitochondrienkörper zeigt die Membran eine deutliche Struktur. Besonders schön sichtbar ist sie in Abb. 2, wo wir sowohl ein Geflecht aus kurzfaserigen Eiweißfibrillen als auch globuläre Eiweißmoleküle erkennen können. Da die Elektronen die Membran ohne starke Absorption passieren, können wir ihre Dicke auf ca. 200 Å schätzen.

<sup>1</sup> H. ZOLLINGER, Exper. 6, 14 (1950).

<sup>2</sup> F. LEUTHARDT und A. F. MÜLLER, Exper. 4, 478 (1948).

<sup>3</sup> V. R. POTTER und A. ELVEHJEM, J. Biol. Chem. 174, 195 (1936).

<sup>4</sup> R. C. WILLIAMS und R. W. G. WYCKOFF, J. Appl. Phys. 17, 23 (1946).