HANDBUCH DER ALLGEMEINEN PATHOLOGIE

ZWEITER BAND / FÜNFTER TEIL

STOFFWECHSEL UND FEINSTRUKTUR DER ZELLE I

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · HEIDELBERG · NEW YORK

HANDBUCH DER ALLGEMEINEN PATHOLOGIE

HERAUSGEGEBEN VON

H.-W. ALTMANN · F. BÜCHNER · H. COTTIER · G. HOLLE
E. LETTERER · W. MASSHOFF · H. MEESSEN · F. ROULET
G. SEIFERT · G. SIEBERT · A. STUDER

ZWEITER BAND

DIE ZELLE

FÜNFTER TEIL

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · HEIDELBERG · NEW YORK
1968

STOFFWECHSEL UND FEINSTRUKTUR DER ZELLE

I

BEARBEITET VON

E. MÖLBERT · W. OEHLERT
B. SCHULTZE · G. SIEBERT

REDIGIERT VON

F. BÜCHNER

MIT 191 ABBILDUNGEN

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · HEIDELBERG · NEW YORK
1968

Alle Rechte vorbehalten

Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Springer-Verlages übersetzt oder in irgendeiner Form vervielfältigt werden

© by Springer-Verlag, Berlin · Heidelberg 1968

Library of Congress Catalog Card Number 56-2297

Printed in Germany

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften

Titel-Nr. 5662

Vorwort.

Zur Biologie und Pathologie der Zelle wurde im Handbuch der Allgemeinen Pathologie 1955 ein erster Band mit dem Thema „Das Cytoplasma" veröffentlicht. Die Beiträge dieses Bandes waren im wesentlichen Ende 1953 abgeschlossen. So haben sie noch einmal alles das an Ergebnissen und Fragestellungen in ihrer Darstellung und der herangezogenen Literatur gesammelt, was die klassische Orthologie und Pathologie der Zelle in der Epoche der Lichtmikroskopie erarbeitet hatte. Sie haben damit die Größe dieser Epoche in einem geschichtlichen Wendepunkt der Zellforschung eindrucksvoll bezeugt.

Die Absicht der Herausgeber dieses Handbuches, dem ersten Teilband über die Biologie und Pathologie der Zelle alsbald weitere Bände folgen zu lassen, erwies sich allerdings als unerfüllbar. Die *Biochemie* stand in der Phase, in der sich die Methoden der Isolierung von Zellorganellen aus Gewebshomogenaten mehr und mehr durchsetzten und verfeinerten, und in der sich Zug um Zug die Frage nach den diesen Organellen zugeordneten Stoffen und Prozessen stellte und löste. In der *Autoradiographie* ergab sich die Möglichkeit, Stoffumsetzungen unter dem Lichtmikroskop sichtbar zu machen und ein Grenzgebiet zwischen Biochemie und Morphologie von großer Aussagekraft Schritt für Schritt zu erschließen. In der *Elektronenmikroskopie* eröffnete sich nach Einführung des ultradünnen Schnittes ein Feld moderner Zellforschung, in dem die Feinstrukturen der Zelle in zunehmender Differenziertheit sichtbar gemacht und zu Phänomenen des Stoffwechsels der Zelle in Beziehung gesetzt werden konnten. Schließlich hat die *Cytochemie* in der gleichen Zeit eine wesentliche Differenzierung durch die Möglichkeit spezifischer Stoffanfärbungen in den Zellen erfahren, vor allem auch durch den lichtmikroskopischen und zuletzt auch den elektronenmikroskopischen Nachweis von Enzymen und ihren Beziehungen zu bestimmten Organellen der Feinstruktur. Inzwischen haben sich die Ergebnisse der mit den verschiedenen modernen Methoden gewonnenen Befunde der Zellforschung in zunehmendem Maße geklärt, und immer mehr wurde ihre Konvergenz sichtbar.

Als Bandherausgeber bin ich den Autoren besonders dafür dankbar, daß sie sich jeweils auf die Anwendung der von ihnen geübten Methode beschränkt, deren Fruchtbarkeit und Grenzen aber mit aller wünschenswerten Klarheit sichtbar gemacht und sich darüber hinaus zugleich Zug um Zug mit den Darstellungen ihrer Partner auseinandergesetzt haben. Auch danken wir ihnen dafür, daß sie in diesem Neuland der Forschung ihren Beiträgen jeweils methodische Kapitel eingefügt haben.

Jeder der Beiträge beansprucht, als eigene Individualität wissenschaftlicher Darstellung gewertet zu werden. Aber unverkennbar ist der Beitrag von Günther Siebert über „Die Biochemie der Zellstrukturen" mit dem von Elisabeth Mölbert über „Die Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenmikroskopischen Bild" und mit dem von Brigitte Schultze über „Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm" vielfach verfugt und umgekehrt. Um die Fruchtbarkeit autoradiographischer Methoden für die moderne morphologische Biologie und Pathologie der Zelle noch weiter zu beleuchten, war uns die Darstellung der „Orthologie und

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

Pathologie des Schwefelstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm" zusätzlich willkommen, die WOLFGANG OEHLERT zu diesem Band beigesteuert hat.

Die Beschränkung auf Teilprobleme der Orthologie und Pathologie von Stoffwechsel und Feinstruktur der Zelle war bei dem gegenwärtigen Stand der Forschung unvermeidbar. So wurde in dem Beitrag über die Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenmikroskopischen Bild die Darstellung bewußt auf die Mitochondrien, das endoplasmatische Reticulum einschließlich der freien Ribosomen und des Ergastoplasmas und auf das Golgi-Feld konzentriert. Auf eine Darstellung der Biologie und Pathologie der Enzyme im lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Bild wurde in diesem Band zugunsten einer späteren Abhandlung noch verzichtet.

Möge der Band vor allem auch dem Dialog der Vertreter der verschiedenen Forschungsrichtungen und dem Wechselgespräch zwischen Biologie und Pathologie, Biochemie und Morphologie förderlich sein.

Freiburg i. Br., Oktober 1967 FRANZ BÜCHNER

Inhaltsverzeichnis.

Biochemie der Zellstrukturen. Von Professor Dr. GÜNTHER SIEBERT, Stuttgart-Hohenheim (früher Mainz). Mit 20 Abbildungen 1

A. Einleitung 1
1. Einführung 1
2. Der Strukturbegriff 2
3. Morphologische und biochemische Methoden 3
4. Isolierung von Zellstrukturen 5
5. Methodenkritik der Isolierungsverfahren 7

B. Zellkerne 11
1. Chemische Zusammensetzung 11
a) Leitsubstanzen und Reinheitsprüfung 12
b) Anorganische Bestandteile 14
c) Niedermolekulare Metabolite 15
d) Lipide 15
e) Proteine 15
f) Nucleinsäuren 18
g) Enzyme 19
2. Der Nucleolus 22
3. Stoffwechselleistungen 23
a) Allgemeines 23
b) Stoffwechselräume und anorganische Substanzen 25
c) Energiegewinnung 26
d) DPN-Haushalt 28
e) Proteinstoffwechsel 29
f) Nucleinsäurestoffwechsel 32
g) Hormoneffekte 35
h) Virusbedingte Stoffwechsel- und Synthesevorgänge in den Zellkernen 36
i) Zellkerne aus experimentell oder spontan pathologisch veränderten Geweben . 38
4. Schlußbemerkung 41

C. Mitochondrien 41
1. Chemische Zusammensetzung 42
a) Leitsubstanzen und funktionelle Kriterien 42
b) Anorganische und niedermolekulare Stoffe 43
c) Proteine 44
d) Lipide 45
e) Nucleinsäuren 47
f) Enzyme 48
g) Unterfraktionen 51
2. Stoffwechsel 54
a) Halbe Lebensdauer von Mitochondrienbestandteilen 54
b) Biologische Oxydation 54
c) Oxydative Phosphorylierung 60
d) Atmungskontrolle 64
e) Entkopplung 67
f) Schwellung 69
g) Kompartmentierung 73
h) Ionentransport 74
i) Einflüsse auf die Glykolyse 76
k) Proteinumsatz 77
l) Lipidumsatz 79
m) Porphyrinumsatz 80
n) Nucleinsäureumsatz 80
3. Mitochondrien aus verschiedenen Geweben 81
a) Gehirn 81
b) Herz 83

c) Niere . . . 83
d) Muskel . . . 84
e) Weitere Gewebe . . . 85
4. Mitochondrien aus experimentell veränderten Geweben . . . 86
a) Höhe und Kälte . . . 87
b) Winterschlaf . . . 87
c) Wachstum und Entwicklung . . . 88
d) Ernährung . . . 90
e) Hormone . . . 93
f) Altern . . . 95
g) Autolyse . . . 95
h) Bestrahlung . . . 96
i) Elektrische Reizung . . . 96
k) Tetrachlorkohlenstoff . . . 97
l) Speicherung . . . 97
5. Mitochondrien aus pathologisch veränderten Geweben . . . 98
a) Tumoren . . . 98
b) Andere Krankheiten . . . 99

D. Lysosomen . . . 99
1. Isolierung . . . 99
2. Charakterisierung . . . 101
3. Vorkommen . . . 101
4. Zusammensetzung . . . 102
a) Membranbestandteile . . . 102
b) Enzyme . . . 103
5. Funktion . . . 104
a) Latenz . . . 104
b) Vitamine A und E . . . 105
c) Ernährung und Blutversorgung . . . 106
d) Bestrahlung . . . 106
e) Leberschädigung . . . 107
f) Andere Eingriffe . . . 107
g) Speicherung . . . 108
6. Pathologie . . . 108

E. Microbodies . . . 109
1. Gewinnung und Eigenschaften . . . 109
2. Funktion . . . 112

F. Mikrosomenfraktion . . . 113
1. Chemische Zusammensetzung . . . 114
a) Leitsubstanzen . . . 114
b) Anorganische und niedermolekulare Substanzen . . . 115
c) Protein . . . 115
d) Lipide . . . 117
e) Ribonucleinsäure . . . 119
f) Enzyme . . . 121
g) Unterfraktionen . . . 125
2. Stoffwechsel . . . 126
a) Proteinsynthese an den Ribosomen . . . 127
b) Lipide . . . 135
c) Ribonucleinsäuren . . . 137
d) Elektronentransport und Hydroxylierungen . . . 137
e) Umsatz von Arzneimitteln und verwandten Substanzen . . . 142
3. Mikrosomen aus experimentell und pathologisch veränderten Geweben . . . 153

G. Lösliches Cytoplasma . . . 155
1. Zusammensetzung . . . 155
2. Physikochemische Untersuchungen . . . 162
3. Stoffwechselleistungen . . . 164

H. Verteilung auf mehrere intracelluläre Fraktionen . . . 166

J. Schlußbemerkungen . . . 176
1. Allgemeines . . . 176
2. Spezielles . . . 177

Literatur . . . 179

Die Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenmikroskopischen Bild. Von Professor Dr. Elisabeth Mölbert, Freiburg (Breisgau). Mit 110 Abbildungen 238

Einleitung 238
Methodenkritik 241

Die Mitochondrien 244

Zur Orthologie der Mitochondrien 244
I. Die Struktur der Mitochondrien 247
1. Die Form 247
2. Die Hüllmembran und die Innenstrukturen 247
3. Die Tubuli 252
4. Die Grundsubstanz 254
5. Mitochondrienfilamente, intramitochondriale Ablagerungen 254
6. Die Mitochondriengranula 260
II. Relation zwischen Stoffwechselintensität und Zahl bzw. Innenstruktur der Mitochondrien 263
III. Die Verknüpfung von Struktur und Funktion der Mitochondrien. Die Enzyme der Mitochondrien 263
IV. Die Mitochondrienneubildung 265

Zur Pathologie der Mitochondrien 270
I. Die qualitativen Veränderungen der Mitochondrien 271
1. Die Schwellung und Cristolyse der Mitochondrien 271
2. Veränderungen von Form und Größe 288
3. Die sphärische Transformation 294
4. Die lamelläre Transformation und die myelinartige Degeneration 298
5. Die bandartige Umwandlung 309
II. Stoffspeicherungen in den Mitochondrien 316
III. Stoffsynthese in den Mitochondrien 318
IV. Die Mitochondriengranula 326
V. Der Mitochondrienturnover 329

Das endoplasmatische Reticulum 336

Zur Orthologie des endoplasmatischen Reticulums 336
I. Die Struktur 336
II. Das Vorkommen 344
III. Die strukturellen Komponenten 346
1. Die intracytoplasmatischen Membranen des endoplasmatischen Reticulums . 346
2. Die Ribosomen 347
3. Der Innenraum 353
4. Der intramembranöse Raum 353
IV. Zur Funktion des endoplasmatischen Reticulums 353
1. Die Ribosomen 353
2. Das Ergastoplasma und das agranuläre endoplasmatische Reticulum 355
a) Das Ergastoplasma 358
b) Das endoplasmatische Reticulum mit glatten Membranen 365

Zur Pathologie des endoplasmatischen Reticulums 368
I. Die Veränderung und Transformation des endoplasmatischen Reticulums . . . 368
II. Die Vacuolisation 370
III. Die Proliferation des agranulären ER. 377
IV. Die Degeneration des endoplasmatischen Reticulums 381
V. Die Neubildung des endoplasmatischen Reticulums 390

Das Golgi-Feld 403

Die Orthologie 403
I. Die Struktur 406
1. Die Golgi-Membranen 406
2. Die Golgi-Bläschen 407
3. Die Golgi-Körper oder Granula 408
4. Die Ausbildung des Golgi-Feldes 408
II. Zur Funktion des Golgi-Apparates 411

Zur Entstehung des Golgi-Apparates 424
Die Pathologie des Golgi-Feldes 426
I. Die Hypertrophie 426
II. Die Atrophie 429
III. Die Degeneration 429

Literatur 431

Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. Von Privatdozentin Dr. BRIGITTE SCHULTZE, Köln (jetzt Würzburg). Mit 52 Abbildungen 466

A. Einleitung 466

B. Grundlagen der Autoradiographie 467
I. Arten des radioaktiven Zerfalls und ihre Bedeutung für die Autoradiographie 467
1. α-Strahler 467
2. β-Strahler 468
3. K-Strahler und Isomere 469
II. Der photographische Vorgang 470
1. Schwärzung der photographischen Emulsion 470
2. Eigenschaften der autoradiographischen Emulsionen 470
3. Fading-Effekt 471
III. Autoradiographische Auflösung 472
1. Prinzip der autoradiographischen Abbildung 472
2. Autoradiographisches Auflösungsvermögen 472
3. Einfluß verschiedener Faktoren auf das Auflösungsvermögen 474
4. Hochauflösende Autoradiographie mit Tritium 475
IV. Quantitative Autoradiographie 476
1. Zielsetzung 476
2. Quantitative Analyse durch Silberkornzählung 476
a) Technik der Silberkornzählung 476
b) Silberkornzahl pro Zerfallspartikel 477
3. Quantitative Autoradiographie mit Tritium 479
a) Grundsätzliches zur quantitativen Tritium-Autoradiographie 479
b) β-Selbstabsorption im Material des Schnitts 479
4. Auszählung von Spuren einzelner β-Teilchen. Spuren-Autoradiographie . . 482

C. Technik der Autoradiographie 482
I. Empfindlichkeit der autoradiographischen Methode. Notwendige Aktivitätsmengen bei in vivo- und in vitro-Untersuchungen 482
II. Vorbereitung des Materials zur Autoradiographie 483
1. Fixationsmittel 483
2. Frage der Löslichkeit markierter Verbindungen bei der Fixation 484
3. Vorbereitung von histologischen Schnitten, Ausstrichen und „squash"-Präparaten 486
4. Chemische und enzymatische Behandlung von Präparaten vor dem autoradiographischen Prozeß 487
a) Zielsetzung 487
b) Spezielle Anwendung für Nucleinsäuren, Proteine und Mucopolysaccharide 488
III. Technik der Anwendung autoradiographischer Emulsionen 490
1. Stripping-Film-Technik 490
2. Technik der Anwendung flüssiger Emulsionen 491
a) Autoradiogramme mit dünner Emulsion (Dipping-Technik) 492
b) Autoradiogramme mit dicker Emulsion 493
3. Autoradiographischer Nachweis einer Doppelmarkierung 493
a) Autoradiogramme mit dünner Emulsion 494
b) Autoradiogramme mit dicker Emulsion 494
c) Doppelschicht-Autoradiogramme 495
IV. Exposition der Autoradiogramme 496
1. Technik der Exposition 496
2. Dauer der Exposition 496
V. Entwicklung und Fixation 497
VI. Färben der Autoradiogramme 498
1. Färben vor Aufbringen der Emulsion 498
2. Färben durch die Emulsion 498

VII. Nulleffekt und Artefakte 499
VIII. Elektronenmikroskopische Autoradiographie 500
1. Grundsätzliches zur Kombination von Autoradiographie und Elektronenmikroskopie 500
2. Technik der elektronenmikroskopischen Autoradiographie 501
a) Vorbereitung der Schnitte 501
b) Feinkörnige Emulsionen 501
c) Verschiedene Techniken zum Aufbringen der Emulsion 501
3. Auflösungsvermögen der elektronenmikroskopischen Autoradiographie . . 503
IX. Autoradiographie wasserlöslicher Substanzen 504
1. Gefriertrocknungsmethode 505
2. Methode der Exposition von Cryostatschnitten bei tiefen Temperaturen . 505
X. Strahlendosis und Strahlenschäden 506

D. Autoradiographische Untersuchungen der Eiweiß-Synthese der Zelle 507
I. Voraussetzungen zur Deutung der in Eiweiß eingebauten Aminosäure-Aktivität als Maß für die Größe der Umsatzrate des Zelleiweißes 507
1. Vorbemerkungen; Begriff der spezifischen Aktivität der freien Aminosäure 507
2. Beziehung zwischen der in Eiweiß eingebauten Aminosäure-Aktivität und der mengenmäßigen Umsatzrate der Aminosäure 508
3. Zusammenhang zwischen der Umsatzrate einer Aminosäure und der Aminosäure-Zusammensetzung des cellulären Eiweißes; Eiweiß-Umsatz 509
II. Die celluläre Eiweiß-Synthese unter physiologischen Bedingungen. 510
1. Orte der Eiweiß-Synthese innerhalb der Zelle 510
a) Cytoplasma 510
b) Kern 510
c) Nucleolus 512
2. Größe der Eiweiß-Synthese verschiedener tierischer Zellarten 512
a) Mittlere Eiweiß-Syntheserate 512
α) Übersicht über die Schwärzungs-Verteilung auf Autoradiogrammen der verschiedenen tierischen Gewebe 512
β) Quantitative autoradiographische und biochemische Untersuchungen zur cellulären Eiweiß-Synthese 521
b) Kerneiweiß-Syntheserate 525
α) Kerneiweiß-Syntheserate innerhalb einer Zellart 525
β) Mittlere Kerneiweiß-Syntheserate in verschiedenen Zellarten 527
c) Cytoplasmatische Eiweiß-Syntheserate 529
3. Ableitung allgemein gültiger Gesetzmäßigkeiten 532
a) Allgemein gültiges Aminosäure-Inkorporations-Schema 532
α) Formulierung 532
β) Beispiele 533
b) Rolle der Kern-Cytoplasma-Volumen-Relation als regulierender Faktor der cellulären Eiweiß-Synthese 533
4. Größe der Eiweiß-Syntheserate während der verschiedenen Teilphasen des Generationscyclus 535
a) Interphase 535
b) Mitose 536
III. Die celluläre Eiweiß-Synthese unter veränderten Bedingungen 537
1. Grundsätzliche Bemerkungen zur Vergleichbarkeit von Ergebnissen mit verschiedenen Tieren 537
2. Eiweiß-Synthese während der Regeneration 539
3. Einfluß von Hormonen, Pharmaka, toxischen und anderen Substanzen . . 540
4. Einfluß von Nahrung, Alterung und Entzündung. Sensorische Reizung und Schädigung des Gehirns 542
5. Eiweiß-Synthese in Tumorzellen 542
6. Eiweiß-Synthese nach Bestrahlung 543

E. Autoradiographische Untersuchung der RNS-Synthese der Zelle 543
I. Grundsätzliche Bemerkungen zum autoradiographischen Nachweis der RNS-Synthese 543
1. Art der Vorläufer und ihre Eigenschaften 543
2. Verschiedene RNS-Fraktionen 545
3. Fixationseffekte 546
4. Ist die Silberkornzahl ein Maß für die RNS-Syntheserate? 546

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

II. Die celluläre RNS-Synthese unter physiologischen Bedingungen 547
1. Intracelluläre RNS-Synthese 547
a) Ort der RNS-Synthese innerhalb der Zelle 547
b) Wanderung der RNS vom Kern zum Cytoplasma 551
c) Beziehung zwischen Kern-RNS und cytoplasmatischer RNS 551
α) Enucleation oder Kern-Transplantation 551
β) UV-Mikro-Strahl-Technik 552
γ) RNS-Synthese-Hemmer 552
δ) Beziehung zwischen RNS-Synthese und DNS 553
2. Größe der RNS-Synthese während der verschiedenen Teilphasen des Generationscyclus 554
3. Größe der RNS-Synthese in verschiedenen Zellarten des tierischen Organismus 556
4. Vergleich zwischen der Größe der Eiweiß- und der RNS-Synthese in verschiedenen Zellarten des tierischen Organismus 556
III. Die celluläre RNS-Synthese unter pathologischen Bedingungen 561
F. Autoradiographische Untersuchung der DNS-Synthese der Zelle 562
I. Ältere Untersuchungen der DNS-Synthese mit P^{32} 562
II. Grundsätzliches zur Verwendung von markiertem Thymidin in DNS-Synthese-Untersuchungen 563
1. Thymidin als spezifischer DNS-Vorläufer 563
a) Einbau markierten Thymidins in den Kern 563
b) Einbau markierten Thymidins in das Cytoplasma 564
2. Stoffwechsel des Thymidins und Fragen des Thymidin-Pools 566
a) Stoffwechsel des Thymidins 566
b) Thymidin-Pool 568
3. Verhalten des markierten Thymidins im Organismus; Verfügbarkeitszeit . 568
a) Verhalten des injizierten markierten Thymidins im Organismus 568
b) Verfügbarkeitszeit des markierten Thymidins 571
4. Die Silberkornzahl pro Kern als Ausdruck der DNS-Syntheserate; Anteil des markierten Thymidins an der gesamten DNS-Synthese der Zelle 573
a) Silberkornzahl pro Kern 573
b) Prozentualer Anteil des applizierten markierten Thymidins an der DNS-Synthese 573
5. Zur Stabilität der DNS 575
6. Zum Problem der Wiederverwendung katabolisierter markierter DNS . . 577
7. Toxicität und Radiotoxicität des markierten Thymidins 580
a) Wachstumshemmung und cytologische Anomalien 581
b) Mutationen 582
c) Tumor-Induktion 583
d) Schlußbemerkungen 583
III. Autoradiographische Untersuchungen der cellulären DNS-Synthese mit markiertem Thymidin 584
1. Untersuchungen der Zellproliferation in tierischem Gewebe unter normalen und pathologischen Bedingungen 584
a) Zellproliferation unter normalen Bedingungen 584
b) Zellproliferation unter pathologischen Bedingungen 588
α) Regenerierendes Gewebe 589
β) Einfluß von Hormonen, Pharmaka etc. 593
γ) Carcinogenese; Proliferation in Tumorgewebe 595
δ) In vitro-Inkubation von Gewebsproben 596
2. Bestimmung der Dauer des Generationscyclus und seiner Teilphasen für verschiedene Zellarten des tierischen Organismus 598
a) Methodisches 599
α) Bestimmung der S-Phasen-Dauer mit Hilfe der Methode markierter Mitosen 599
β) Bestimmung der S-Phasen-Dauer mit Hilfe einer Doppelmarkierung mit H^3- und C^{14}-Thymidin 600
γ) Bestimmung der Dauer der Generationszeit 602
b) Ergebnisse 603
α) Tabellarische Übersicht über veröffentlichte Werte von Generationszeiten und ihrer Teilphasen (bis Mitte 1967) 603
β) Dauer der S-Phase 603
γ) Dauer der Mitose 617

δ) Dauer der G_2-Phase 617
ε) Zeitintervall zwischen Beginn der S-Phase und Ende der Mitose (= S + G_2 + M) 618
ζ) Bedeutung der G_1-Phase für die Cyclus-Dauer 618
η) Tumorzellen 618
ϑ) Änderung der Generationszeit oder ihrer Teilphasen durch verschiedene innere und äußere Einflüsse 619
c) Tageszeitliche Schwankungen des Markierungs-Index 620
d) Untersuchungen der Variation der Generationszeit innerhalb einer Zellpopulation mittels Dauerinfusion von H^3-Thymidin, „growth fraction" 621
3. Größe der DNS-Syntheserate während der S-Phase 624
a) Im gesamten Kern 624
b) In einzelnen Chromosomen 627
4. Strahleneffekte auf die DNS-Synthese und Strahlenempfindlichkeit der einzelnen Teilphasen des Zellcyclus 627
a) Einfluß auf den Markierungs-Index 628
b) Einfluß auf die DNS-Syntheserate 628
c) Einfluß auf die Dauer des Zellcyclus und seiner Teilphasen 629
d) Relative Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Phasen des Zellcyclus 630
5. Untersuchungen zum Mechanismus der Chromosomen-Verdopplung und der Verteilung der neugebildeten DNS auf die Tochterzellen 632

Literatur 636

Ergänzungen zur Literatur 667

Orthologie und Pathologie des Schwefelstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. Von Professor Dr. Wolfgang Oehlert, Freiburg (Breisgau). Mit 9 Abbildungen 671

Aufnahme, Organverteilung und Ausscheidung von S^{35}-Sulfat 671

Der Einbau von S^{35}-Sulfat in schleimbildende Zellen 672

Der Schwefeleinbau in die Chondroitinschwefelsäure des hyalinen und des Gelenkknorpels 677

Der Schwefeleinbau in die Chondroitinschwefelsäure des Epiphysenknorpels und des Knochens 679

Der Schwefeleinbau im Bindegewebe und den Gefäßen 682

Der Schwefeleinbau in Gewebsmastzellen 683

Der Schwefeleinbau in die Epidermis und das mehrschichtige Plattenepithel der Zunge und des Vormagens 684

Der Schwefeleinbau in den Geweben des weiblichen Genitaltraktes 687

Der Schwefeleinbau während der Embryonalentwicklung 687

Der Schwefeleinbau im ZNS 689

Der Schwefeleinbau in Leber, Niere, Pankreas und innersekretorische Organe 689

Der Schwefeleinbau in Tumoren 691

Der S^{35}-Einbau in verschiedene Zellelemente des Knochenmarks 692

Literatur 693

Namenverzeichnis 697

Sachverzeichnis 770

Biochemie der Zellstrukturen.

Von

Günther Siebert*.

Mit 20 Abbildungen.

A. Einleitung.

1. Einführung.

Die Biochemie befindet sich seit etwa 2 Jahrzehnten in einer Phase starker Expansion. Diese ist in gleicher Weise durch neue geistige Konzeptionen wie durch neuartige methodische Möglichkeiten bedingt. Wechselwirkungen zwischen diesen beiden Faktoren erklären die sinnfälligen Fortschritte biochemischer Forschung; gleichzeitig führen sie aber auch zu wesentlich engerer Berührung mit anderen biologischen Fächern: Die Entwicklung der Biochemie der Zellstrukturen bietet hierfür ein ausgezeichnetes Beispiel.

Seit einzelne Strukturelemente der Zelle der Isolierung zugänglich sind, können sie auch mit biochemischen Methoden untersucht werden. Die ersten Ansätze zu solchen Experimenten liegen schon etwa 60 Jahre zurück[1], doch stammt der wesentliche Impuls zur biochemischen Untersuchung intracellulärer Strukturen aus den letzten zwei Jahrzehnten[2]. Die Entwicklung brauchbarer Isolierungsverfahren traf zu jener Zeit mit der Erkenntnis zusammen, daß für viele biochemische Probleme eine Separierung der einzelnen Zellstrukturen unabdingbare Voraussetzung für die weitere experimentelle Bearbeitung ist. Die dem Biochemiker geläufigen analytischen und präparativen Methoden haben so durch die Kombination mit der Zellfraktionierung eine enorme Erhöhung ihrer Leistungsfähigkeit erfahren. Die seitdem erzielten Fortschritte der Kenntnis der Strukturelemente der Zelle finden in zahllosen einschlägigen Publikationen ihren Niederschlag, die daher die Verweisung auf zusammenfassende Darstellungen unumgänglich machen[2, 3].

Die Zuordnung biochemischer Befunde zu bestimmten Zellstrukturen ist heute ein selbstverständliches Anliegen biochemischer Untersuchungen geworden. Für zahlreiche Probleme des Intermediärstoffwechsels, der Enzymlehre und vieler anderer Gebiete muß eine Beschreibung als unvollständig gelten, wenn nicht wenigstens versucht wird, Angaben zur intracellulären Lokalisation dieser Prozesse zu machen. Es wird eine der Aufgaben dieses Beitrages sein, zu zeigen, in welchem Ausmaß bereits heute Wechselwirkungen zwischen biochemischen Befunden und der Lehre von den Strukturelementen der Zelle zu erkennen sind.

Unverkennbar sind die Fortschritte, die der reinen Biochemie durch die Berücksichtigung lokalisatorischer Fragen zugewachsen sind. Erst die Auftrennung

* Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Mainz.

[1] Ackermann 1904/05, Warburg 1910/11.

[2] Lang und Siebert 1954, Lang und Siebert 1955.

[3] Allfrey, Mirsky und Stern 1955, Hogeboom, Kuff und Schneider 1957, Crook 1959, Hayashi 1959, Roodyn 1959, Allfrey 1959, Novikoff 1961a, Novikoff 1961b, Porter 1961, Mirsky und Osawa 1961, de Duve, Wattiaux und Baudhuin 1962, Karlson 1963, Siebert und Humphrey 1965.

in einzelne Zellfraktionen kann es z. B. ermöglichen, bestimmte Enzymreaktionen nachzuweisen, weil etwa in Gegenwart anderer Zellbestandteile (wie im Gewebsschnitt oder Homogenat) interferierende Prozesse ablaufen, die um das Substrat konkurrieren oder ein Reaktionsprodukt laufend beseitigen und so den Nachweis scheinbar fehlschlagen lassen[1].

Desgleichen gibt es manche Beispiele, daß die Isolierung einer bestimmten Substanz, etwa eines Enzyms, nur gelingt, wenn man mit der Abtrennung derjenigen Zellfraktion aus einem Homogenat beginnt, in der die gesuchte Substanz vorzugsweise angereichert ist. Ein solches Vorgehen ist mit dem weiteren Vorteil verbunden, daß die Trennung von Zellbestandteilen häufig autolytische Prozesse unterbindet; nicht selten nämlich sind Substrat und Enzym für solche Vorgänge in der lebenden Zelle räumlich voneinander getrennt, und man kann auch nach Zellzerstörung durch Zellfraktionierung die Komponenten weiterhin separiert halten.

Die Erkenntnis von der Arbeitsteilung innerhalb der Zelle, lange schon vermutet und indirekt erschlossen, ist wohl einer der wichtigsten Fortschritte, den das Studium der intracellulären Lokalisation für die Biochemie erbracht hat. Hierher gehören die Zuordnung der Proteinsynthese zu der sog. Mikrosomenfraktion, die überragende Rolle der Mitochondrien in dem der Energiegewinnung dienenden Stoffwechsel oder auch die Erkennung bestimmter intracellulärer Räume, die durch spezielle Reaktionsabläufe, etwa im Bereich biosynthetischer, reduktiver Prozesse, charakterisiert sind. So läßt sich die Stoffwechsellehre heute in einzelnen ihrer Zweige bereits als dreidimensionale Stoffwechsellehre formulieren, mit allen Konsequenzen hinsichtlich der Kommunikation einzelner Räume untereinander, der notwendigen Transport- und Austausch-Vorgänge und ihrer Beeinflussung durch pathologische, experimentelle oder Umwelt-Einflüsse.

Obwohl die Vielzahl der vorliegenden Befunde dazu einladen könnte, die gesamte Biochemie unter dem Aspekt der intracellulären Lokalisation abzuhandeln, bleibt es fraglich, ob dies z. Zt. sinnvoll ist. In dem vorliegenden Beitrag wird daher versucht werden, einzelne, hinreichend bearbeitete Gebiete zu schildern und dabei auf mehr allgemeine Gesichtspunkte besondere Betonung zu legen.

2. Der Strukturbegriff.

Der Strukturbegriff, für den Morphologen zunächst einmal mit dem Begriff der Anschaulichkeit verbunden, hat in der Biochemie eine im Ursprung durchaus unterschiedliche Bedeutung. Jegliche Ausbildung einer Struktur, ja selbst schon einer „nichtstrukturierten" Grenzfläche, führt vom homogenen Lösungs-System zu heterogenen Systemen; damit werden Stofftransport und Stoffverteilung in entscheidender Weise modifiziert, indem die physikalischen Phänomene der Diffusion bezüglich Geschwindigkeit, Richtung und endlicher Gleichgewichtslage gegenüber einem löslichen, homogenen System durch neue Faktoren verändert werden. So ermöglicht die Ausbildung von Strukturen z. B. die Einstellung und Erhaltung von Konzentrationsgradienten, wie sie etwa für das intracelluläre Ionenmilieu im Vergleich mit dem extracellulären Bereich charakteristisch sind[2].

Der hier verwendete Strukturbegriff hat primär nichts mit der Frage zu tun, ob eine solche Struktur „sichtbar" ist oder nicht. Die Grenze der Sichtbarkeit ist durch die Fortschritte der Elektronenmikroskopie bis an den Größenbereich makromolekularer Substanzen herangerückt worden. Indessen garantiert die Präparationstechnik in der Elektronenmikroskopie nicht notwendigerweise, daß alle Strukturen sichtbar werden, wie auch umgekehrt die Frage möglicher Artefakte

[1] Plaut und Sung 1954. [2] Netter 1959.

immer neu zu diskutieren ist. Struktur im physikochemischen Sinne wird dagegen durch ihre Funktion erfaßt, existiert also z. B. immer dann, wenn Grenzflächenphänomene meßbar sind und hängt in ihrem Existenzbeweis nicht unmittelbar von der Möglichkeit ihrer Sichtbarmachung ab. Selbstverständlich stellt sich stets, wenn ein funktioneller Beweis für eine Struktur vorliegt, auch die Frage nach ihrem chemischen Aufbau und ihrem morphologischen Substrat, doch ist dies keine Vorbedingung ihres Existenzbeweises.

Betrachtet man die Ausbildung einer irgendwie gearteten Struktur aus einem unstrukturierten Medium, so muß man die außergewöhnlich geringe statistische Wahrscheinlichkeit in Rechnung stellen, daß dieser Vorgang überhaupt abläuft; thermodynamisch verständlich wird die Entstehung einer solchen Struktur nur unter der Bedingung, daß gleichzeitig Energie aufgewendet wird. In der Tat ist die z. Z. beste Erklärung für Existenz und Ausmaß des Grundumsatzes des Menschen die Meinung, daß der wesentliche Teil dieses Grundumsatzes Energieverbrauch zur Erhaltung der Struktur sei[1]. Diese Ableitung führt damit unmittelbar zur Verknüpfung von Struktur- und Stoffwechselproblemen, einem Bereich, der noch häufig in diesem Beitrag berührt werden wird.

Nicht nur in räumlichem Sinne, sondern gerade auch in funktioneller Hinsicht gestattet der Strukturbegriff, zum Begriff der räumlichen Ordnung überzuleiten. Erst die Existenz von Strukturen ermöglicht es, in die Vielzahl biochemischer Reaktionen einer Zelle eine gewisse, wie sich zeigen wird, höchst wirksame Ordnung zu bringen; etwa dadurch, daß Wirkstoff- und Hemmstoff-Systeme in räumlicher Trennung gehalten werden[2], daß die Wandelbarkeit mancher Strukturen Regulationseffekte ermöglicht[3] oder daß zusammengehörige Reaktionsabläufe durch Strukturbindung in der „richtigen" Reihenfolge gehalten und durch die unmittelbare Nachbarschaft miteinander reagierender Systeme höhere Reaktionsgeschwindigkeiten erzielt werden, als sie die freie Diffusion in löslichen Systemen ermöglichen würde[4]. Dies gilt insbesondere auch dann, wenn eine Zellstruktur ein Permeationshindernis darstellt; dessen Überwindung erfordert zusätzliche chemische Prozesse, einschließlich energieumsetzender Reaktionen, und ermöglicht Regulationsmechanismen.

Allerdings bereitet die Anwendung des Strukturbegriffes zumindest in einer Hinsicht erhebliche Schwierigkeiten: Die thermodynamisch-kinetische Behandlung mehrstufiger Reaktionsketten ist schon in freier Lösung schwierig genug, wird aber nahezu unmöglich, wenn — notwendigerweise — Strukturbindung von Enzymen, Permeabilitätsphänomene usw. mit berücksichtigt werden sollen[4].

Diese bewußt qualitativ gehaltene Erörterung der Bedeutung des Strukturbegriffes für die Biochemie mag zunächst genügen, um die Ansatzpunkte zu zeigen, von denen eine eingehendere Behandlung dieser Probleme auszugehen hat. Sobald der Ordnungsbegriff eingeführt wird, ist eine Beteiligung teleologischer Gesichtspunkte möglich, etwa wenn durch räumliche Trennung von Substrat und Enzym in einer Zelle die Verhinderung intravitaler Autolyseprozesse bewirkt wird[3]. Indessen wird in diesem Beitrag versucht werden, teleologische Überlegungen nicht hervortreten zu lassen.

3. Morphologische und biochemische Methoden.

Wie bereits erwähnt, sind es in der Morphologie vorwiegend Form und Qualität, die der Beobachtung unmittelbar zugänglich sind. Die Biochemie versucht,

[1] Lang und Ranke 1950.
[2] Siebert, Villalobos jr., Ro, Steele, Lindenmayer, Adams und Busch 1966.
[3] Ciba Foundation 1963. [4] Chance und Williams 1956.

die Funktion als hauptsächliches Forschungsanliegen durch kinetische Studien quantitativ zu erfassen. Zusammenhänge zwischen Form und Leistung, d. h. das alte Struktur-Funktions-Problem, zu begreifen, wird jedoch durch manche unvermeidliche Eigentümlichkeiten der beiden Forschungsrichtungen erschwert. So ist das zunächst in der belebten Natur gegebene Beobachtungsobjekt von stets sehr komplexer Natur; an der Herstellung eines gegebenen Zustandes sind immer viele Faktoren gleichzeitig beteiligt. Weder die räumliche Ordnung an sich noch die zeitliche Aufeinanderfolge bestimmter Phänomene berechtigen als solche, unmittelbar auf ursächliche Zusammenhänge zu schließen; dem wird stets eine sehr sorgfältige Abwägung aller einzelnen Beweisstücke vorausgehen müssen.

Wegen der Schwierigkeit, aus einer überaus komplexen Situation Schlüsse zu ziehen, wird man versuchen, möglichst viele Variabeln zu eliminieren, um zu übersichtlichen Versuchssystemen zu gelangen. Man nähert sich also im experimentellen Bereich mehr und mehr der Untersuchung von Modellfällen; mit einem gewissen Verlust an Allgemeingültigkeit erhöht sich entsprechend die Schärfe der Aussage. Die Möglichkeit aber, Variable zu eliminieren, ist für morphologische und biochemische Versuchsanordnungen von sehr verschiedenem Ausmaß. So kann man z. B. in der Biochemie einzelne Enzyme aus einem Gewebe isolieren, ihre Eigenschaften nach Reindarstellung studieren und dann erwägen, wie sich die erhobenen Befunde in die komplexen Stoffwechselreaktionen, in denen dieses Enzym eines von vielen Gliedern ist, integrieren lassen. Man wird also aus der Kenntnis einzelner Variablen, etwa der Substratspezifität oder der Gleichgewichtslage, bestrebt sein, das Verhalten dieses Enzyms in einem multivariablen Reaktionssystem zu verstehen. Es leuchtet ein, daß eine so weitgehende Zergliederung eines Phänomens der morphologischen Methodik meist nicht möglich ist.

Der Zug zur Behandlung von Modellfällen tritt besonders deutlich im Bereich biochemischer Untersuchungen an pathologischem Beobachtungsgut hervor: Die imponierende Vielfalt der Erscheinungen kann eine naturwissenschaftliche Bearbeitung bis zur Unmöglichkeit erschweren, etwa auf dem Gebiet der menschlichen Tumoren. Daher beschränkt sich z. B. die biochemische Bearbeitung des Tumorproblems vornehmlich auf Experimentaltumoren an Versuchstieren, hier wiederum speziell auf „reine" Tumorzellen, etwa in der Ascitesform. So steht der faszinierenden Mannigfaltigkeit pathologischer Beobachtungen am Menschen nur ein relativ geringes Maß an biochemischen Befunden gegenüber. Vergleichbare morphologische und biochemische Daten existieren vorerst im wesentlichen im Bereich der Orthologie. Daher wird sich dieser Beitrag im wesentlichen auf solches Material beschränken müssen und nur gelegentlich die Pathologie der Zellstrukturen streifen können. Größeres Beobachtungsgut liegt indessen für experimentelle Bedingungen vor, die nicht eigentlich krankhaft sind, wie z. B. veränderte Ernährungsbedingungen, Bestrahlung, Kälteexposition, Leberregeneration nach partieller Hepatektomie und vieles andere mehr; so wird eine Berücksichtigung solcher Befunde, die als Modellfall pathologischer Umstände gelten können, weitgehend erfolgen und manche Rückschlüsse auf die eigentliche Pathologie zulassen.

Die Größenordnung des Einzelobjekts, an dem Beobachtungen gemacht werden können, ist wiederum für Morphologie und Biochemie überaus verschieden. Während die elektronenoptische Beobachtung bis herunter zu Längenmaßen von etwa 15 Å Aufschlüsse geben kann, erfordern biochemische Mikromethoden im allgemeinen mehr als das 1000fache an Material. Die Empfindlichkeit chemischer oder physikalischer Meßmethoden reicht also nicht im entferntesten an die Auflösungskraft optischer Geräte heran.

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com