3. COLLOQUIUM DER
GESELLSCHAFT FÜR PHYSIOLOGISCHE CHEMIE
AM 26./27. APRIL 1952 IN MOSBACH/BADEN

DIE CHEMIE UND DER STOFFWECHSEL DES NERVENGEWEBES

MIT 23 TEXTABBILDUNGEN

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1952

3. COLLOQUIUM DER
GESELLSCHAFT FÜR PHYSIOLOGISCHE CHEMIE
AM 26./27. APRIL 1952 IN MOSBACH/BADEN

DIE CHEMIE UND DER STOFFWECHSEL DES NERVENGEWEBES

MIT 23 TEXTABBILDUNGEN

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1952

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung
in fremde Sprachen, vorbehalten.

Copyright 1952 by Springer-Verlag OHG.
Berlin · Göttingen · Heidelberg

Printed in Germany

BRÜHLSCHE UNIVERSITÄTSDRUCKEREI GIESSEN

Begrüßung und Eröffnung.

Im Namen des Vorstandes unserer Gesellschaft begrüße ich Sie zu unserem diesjährigen Colloquium. Obwohl wir erst zum dritten Mal hier zusammenkommen, haben sich die „Mosbacher Colloquien" doch schon ein gewisses Ansehen erworben und sind zu einem Begriff für sachliche und offene Diskussion geworden, wo es uns nur darum zu tun ist, über das gestellte Thema klare Einsicht und Erkenntnis zu gewinnen, soweit es der gegenwärtige Stand der Forschung zuläßt. Jede Frage, jeder Einwand, der uns zwingt, die Probleme von möglichst vielen Seiten her zu überlegen und durchzudenken, ist willkommen. Deswegen freuen wir uns immer darüber, daß nicht nur physiologische Chemiker sondern auch Vertreter der Nachbardisziplinen nach Mosbach kommen und neue Anregungen mitbringen. Andererseits wollen wir aber verhüten, daß sich das Colloquium zu einem Kongreß ausweitet.

Diesmal ist unser Thema: „Die Chemie und der Stoffwechsel des Nervengewebes". Wie im vergangenen Jahr lehnen wir uns mit diesem Thema wieder an die Morphologie an.

Das Nervengewebe ist auf ganz spezielle Funktionen hin differenziert, nämlich die: Erregungen zu erzeugen, zu empfangen und zu schalten. Hier wird es besonders interessant sein, der Frage nachzugehen, wie sich diese Funktionen nicht nur im morphologischen, sondern auch im chemischen Aufbau widerspiegeln und welche von den allgemein möglichen und potentiell in jedem Protoplasma angelegten Prozessen nun für deren Erfüllung ausgewählt sind. Das Nervengewebe unterscheidet sich noch dadurch von allen anderen, daß die Fortsätze seiner Zellen wesentlich an Masse übertreffen, ein Umstand, der sich vielleicht auch im Chemismus auswirkt.

Es waren sechs Referate vorgesehen. Eines über die neueren Anschauungen von der Nervenleitung fällt aus, da Herr Dozent Dr. Stämpfli leider erkrankt ist. Er wird aber sein Manuskript für den Druck der Verhandlungen zur Verfügung stellen.

Hiermit ist das dritte Colloquium eröffnet und ich hoffe, daß Referate und Diskussionen viele Anregungen geben werden.

K. Felix.

Inhalt.

Chemische Komponenten der Nervenzelle und ihre Veränderungen im Alter und während der Funktion. Mit 11 Textabbildungen . . . 1
(H. Hydén, Göteborg/Schweden)
Diskussion 23

Der chemische Aufbau der Nervenzelle und der Nervenfaser
(E. Klenk, Köln) 27
Diskussion 38

Der Energiestoffwechsel des Nervengewebes und sein Zusammenhang mit der Funktion. Mit 4 Textabbildungen (H. Weil-Malherbe, Nr. Wickford/England) 41
Diskussion 60

Energieumsatz des Gehirns in situ unter aeroben und anaeroben Bedingungen. Mit 6 Textabbildungen (E. Opitz, Kiel) 66
Diskussion 102

Neuere Theorien der Nervenleitung. Mit 2 Textabbildungen
(R. Stämpfli, Bern/Schweiz) 109

Wechselwirkung zwischen Gehirn und Leber (E. Albert, Frankfurt) 129
Diskussion 148

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

Chemische Komponenten der Nervenzelle und ihre Veränderungen im Alter und während der Funktion.

Von

HOLGER HYDÉN.

Aus dem Histologischen Institut der Medizinischen Hochschule, Göteborg C.

Mit 11 Textabbildungen.

Untersucht man die Funktion eines Teiles des Nervensystems, so dominieren beinahe immer zwei Gesichtspunkte, und zwar die Nervenimpulse und die synaptische Reizfähigkeit, d. h. man behandelt Ergebnisse, welche man durch neurophysiologische Technik erhalten hat.

Aber ebenso glaubhaft wie die neurophysiologische Hypothese, schreibt YOUNG[41], kann der entgegengesetzte Satz sein, daß die Arbeitsweise der interessantesten Teile des Nervensystems erst begriffen werden kann, wenn man weiß, wie die Substanzen der Nervenzelle sich während des Lebens verändern. Die Auffassung, daß das lebende Gewebe ständig seine Substanz ändert, ist allgemein anerkannt, aber man sieht vielleicht nicht ein, daß diese ständige Veränderung die Grenze zwischen der ontologischen Entwicklung, die auf der Erblichkeit beruht, und dem Zustand während des adulten Lebens des Organismus radikal aufhebt. Die Nervenzelle teilt sich zwar nicht, ändert sich aber ständig in ihrer Substanz, und dieser stete Wechsel läßt sich mit der Arbeitsweise des Nervensystems gut vereinigen.

Man kann die Funktion des Nervensystems ebensogut von solch einem Gesichtspunkt aus betrachten, nämlich als Stoffwechselproblem, derart wie SCHÖNHEIMER[39] in seinem klassischen Buch: „The dynamic state of body constituents".

Ich will in meinem Referat versuchen, die Resultate zu beleuchten, welche zeigen, wie die Nervenzelle quantitativ ihre Substanz im Anschluß an einen adäquaten Reiz, d. h. bei gesteigerter Funktion, ändert.

Der Kern.

Zunächst einige Worte über die Kernstrukturen der Nervenzelle, welche, mit Ausnahme des Nucleolus, bisher wenig Interesse auf sich gelenkt haben, trotz der dominierenden Stellung vom cytogenetischen Gesichtspunkt aus und trotz ihrer Bedeutung für die Stoffwechselprobleme und die Funktion des Neurons. Dieses nimmt vom genetischen Gesichtspunkt aus eine Sonderstellung ein, da es in einem frühen Stadium aufhört sich zu teilen und zu differenzieren und sich zur größten Zelleneinheit des Organismus entwickelt. Wegen des mangelnden Auflösungsvermögens der üblichen biochemischen Methoden gibt es noch wenige Arbeiten über die Zusammensetzung des Kernes. Auch zur Isolierung einzelner Nervenzellkerne scheint noch keine Methode befriedigend ausgearbeitet zu sein. Die Methode, welche MIRSKY und seine Mitarbeiter[3] im vorigen Jahr zur Isolierung von Kernen in wasserfreiem Medium und zur Bestimmung der Enzymaktivität entwikkelt haben, kann ein denkbarer Weg werden, wenn sie mit zellchemischen Methoden verbunden wird. Es handelt sich um eine Modifikation des von BEHRENS[9] ausgearbeiteten Verfahrens.

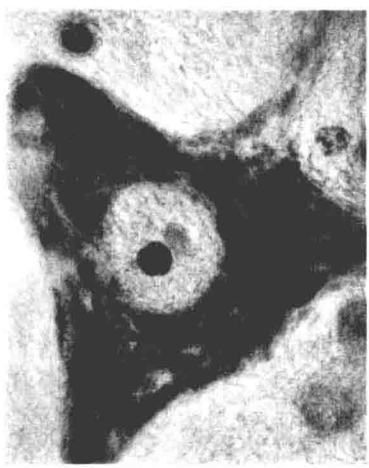


Abb. 1. Motorische Vorderhornzelle, Kaninchen, bei 2570 Å photographiert. Fixierung: CARNOYsche Lösung. Neben dem Nucleolus ist ein stärker als die umgebende Kernsubstanz absorbierendes Gebiet, das beim Männchen reichlicher entwickelt ist als beim Weibchen. Objektiv: Monochromat 2,5 mm. Vergr. 1150fach.

Einige der Kernstrukturen lassen sich bereits analysieren, welche anscheinend die genetische Sonderstellung der Nervenzelle abspiegeln.

So tritt auf einer Ultraviolettphotographie großer Ganglienzellen bei den meisten Säugetieren neben dem Nucleolus ein stärker als die umgebende Kernsubstanz absorbierendes Gebiet auf (Abb. 1), das sich auch kräftiger mit sauren Farbstoffen färbt. Es gibt ein charakteristisches Absorptionsspektrum, welches das Vorkommen von Pentosenucleinsäuren sowie von Eiweißstoffen

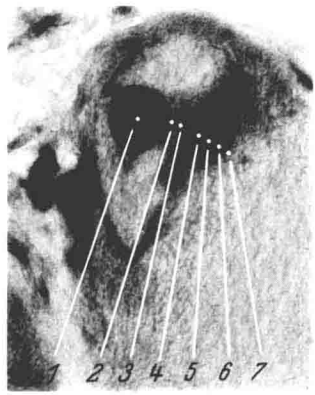
anzeigt. Dieses Eiweiß ist reich an freien basischen Gruppen, erinnert in seiner Zusammensetzung an heterochromatische Chromosomenteile bei verschiedenen Zweiflüglern und ist beim Männchen reichlicher vorhanden als beim Weibchen[29]. Dies macht eine Korrelation zum y-Chromosom wahrscheinlich. Das Gebiet wird geeigneterweise als ein heterochromatisches Gebiet definiert und ist beim Kaninchen untersucht worden. Es reagiert mit quantitativen Veränderungen, z. B. bei kräftiger Stimulation[25] und bei Virusinfektion[30], wobei sich die Menge der heterochromatischen Substanz in auffälliger Weise vermehren kann.

Ehe der Nucleolus sich entwickelt, kann als weitere Kernstruktur ein kompaktes Chromozentrum beobachtet werden, das in mehrere feulgenpositive Partikel gesprengt wird, wenn Pentosenucleinsäuren im Nucleolus entstehen[29]. Einer von diesen Partikeln scheint etwas größer zu sein und ist von BARR und BERTRAM[4, 5] als ein Satellit bezeichnet worden. Diese Struktur ist vor allem bei Nervenzellen des Weibchens, aber nur schwach beim Männchen entwickelt. Der Satellit wird von BARR und BERTRAM als ein Derivat des x-Chromosoms angesehen. Er kann auch bei den Gliazellen, und zwar mit demselben Unterschied der Geschlechter, wahrgenommen werden[6]. Bei einer elektrischen Stimulation des Neurons konnte beobachtet werden, daß der Satellit zur Kernmembran hinwandert, daß er aber später an seinen Platz dicht am Nucleolus zurückkehrt[4].

Gibt es strukturelle Veränderungen, welche darauf hindeuten, daß der Kern die Vorgänge im Cytoplasma dirigiert? Auf verschiedene solche Beobachtungen, welche in der älteren Literatur gesammelt sind, will ich hier nicht eingehen. Eindeutig läßt sich dieser Zusammenhang zwischen Veränderungen im Kern der Nervenzellen, vor allem im Nucleolus, und den Pentosenucleoproteiden des Cytoplasmas an den Ganglienzellen von Lophius piscatorius studieren[28] (Abb. 2).

Auf Abb. 2 sieht man neben der Ultraviolettphotographie Absorptionsspektren, welche in den angezeigten Punkten vom Nucleolus zur stark gefalteten Kernmembran hin aufgenommen worden sind. Die Extinktionswerte für die absorbierenden Aminosäuren zeigen einen Gradienten vom Nucleolus zur Kernmembran.

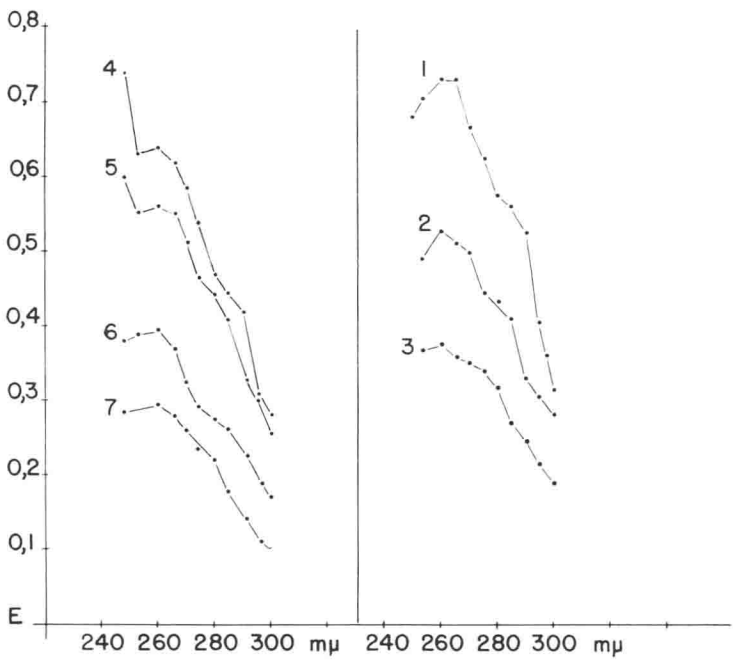
Das kann als ein Beweis für die Steuerwirkung des Kerns und besonders des Nucleolus bei der Bildung der Pentosenucleoproteide



a

des Cytoplasmas gedeutet werden. Diese werden nämlich gleichzeitig in großen Mengen an der Außenseite der Kernmembran gebildet. Ich möchte aber unterstreichen, daß dieser vielleicht extreme Fall nicht ausschließt, daß außerdem noch ein selbstproduzierendes System für die Nucleinsäurebildung im Cytoplasma vorhanden ist.

Dieses Beispiel illustriert somit die Anwendung der Ultraviolettspektrographie auf einen Schnitt durch Nervenzellen. Sie ist die eine



b

Abb. 2a u. b. a Spinalganglienzelle von Lophius piscatorius. b Absorptionsspektra an verschiedenen Punkten vom Nucleolus zur Kernmembran (1—3) und von der Kernmembran zur Mitte des Cytoplasmas (4—7) aufgenommen.

der beiden quantitativen zellchemischen Methoden, welche bei Untersuchungen über quantitative Substanzänderungen in der Nervenzelle angewandt werden können. Ich setze voraus, daß diese Methode zum größten Teil bekannt ist. Sie ist von CASPERSSON entwickelt worden[15, 16] und baut sich auf die kräftige Absorption von Purin- und Pyrimidinbasen bei 2600 Å und die Absorption der Aminosäuren Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin bei 2800 Å auf. Aus den Extinktionswerten wird die Menge der Nucleinsäuren per Vol.-Einheit einer Zellstruktur berechnet in der Annahme, daß das spezifische Gewicht 1 ist. Diese Methode hat wertvolle Erkenntnisse über die chemische Zusammensetzung der Zelle erbracht und wird auch in einer Reihe von Arbeiten über Nervenzellen und über die Funktion des Neurons angewandt. Die Inhomogenitäten in den Eiweißstrukturen der Zelle machen jedoch die Bestimmungen unsicher und schränken die Verwendung der Methode[20] ein. Die Berechnung der Absorption der Basen bei 2600 Å wird von einer Menge Streulicht im Präparat und von Lichtverlusten beeinflußt, welche zwischen Partikeln mit verschiedenem Brechungsindex im Präparat entstehen. Der Gehalt an Eiweißsubstanz in einem Zellabschnitt kann auf der Basis der Aminosäureextinktion bei 2800 Å, wie zu erwarten, nur angenähert berechnet werden, weil man sich auf ein Standardeiweiß beziehen muß, das die absorbierenden Aminosäuren in einem gewissen Verhältnis enthält. Aber für den Nucleinsäuregehalt in einem Schnitt durch eine Zelle kann die Methode, wenn sie bei optisch korrekten Verhältnissen angewandt wird, zufriedenstellende Werte liefern.

Methoden zur Nucleinsäurebestimmung, welche auf der photometrischen Bestimmung der Menge von Farbstoff, z. B. Pyronin und Methylgrün, die an verschiedene Zellstrukturen gebunden ist, aufbauen, bringen Fehlresultate von bedeutenderer Größenordnung mit sich. Außerdem ist viel zu wenig über die Chemie der Farbenbindung an die Zellsubstanzen bekannt, um Schlußfolgerungen aus solchen Versuchen zu erlauben.

Die röntgenmikroradiographische Methode.

Da die Ultraviolettspektrographie nur die Lokalisation und Bestimmung *einer* wichtigen Substanz mit Sicherheit zuläßt, war das Bedürfnis nach neuen Methoden aktuell. Wir haben kürzlich eine neue Bestimmungsmethode für Lipide, Pentosenucleoproteide

und die übrigen Eiweißstoffe der Nervenzellen ausgearbeitet[14]. Die Analyse wird am frischen, unbehandelten Präparat durch Röntgen-Mikroradiographie bei 8—10 Å ausgeführt. Die verschiedenen Fraktionen werden als Gewichtsunterschiede, ausgedrückt in 10^{-9} mg/μ^3, nach Extraktion und anschließender Digerierung mit einem Enzym erhalten. Das Auflösungsvermögen der Methode liegt bei 4 μ^2 und dieses Analysierungsgebiet wird über die Zelle integriert. Die Methode baut auf dem Prinzip der Massenbestimmung von Zellteilen durch Röntgen-Mikroradiographie auf, welche von ENGSTRÖM und LINDSTRÖM[17, 18] ausgearbeitet worden ist. Bei 8—10 Å ist die Masse biologischen Materials, bezogen auf H, C, N und O, proportional der Absorption der Röntgenstrahlung. Wir haben diese Methode auf Nervengewebe angewandt und vor allem die Fehlerquellen untersucht sowie gewisse wichtige technische Verbesserungen vorgenommen.

Eine kontinuierliche Röntgenstrahlung wird bei 3000 Volt erzeugt und durch eine 9 μ dicke Aluminiumfolie filtriert. Ein 5 bis 10 μ dicker Gewebeschnitt wird in einem Präparathalter zusammen mit einem Vergleichssystem montiert, das aus dünnen Nitrocellulosehäuten besteht und dieselbe Abhängigkeit der Absorption von der Wellenlänge zeigt wie die biologische Substanz. Sowohl das Präparat wie das Vergleichssystem werden im Maßstab 1:1 auf einem feinkörnigen Lippmann-Film mit einem Auflösungsvermögen von 2 μ photographiert. Dann wird direkt auf dem Radiogramm in 500—800facher Vergrößerung eine Schwärzungsmessung ausgeführt. Die erhaltenen Werte für die gemessene Röntgenabsorption werden in absolute Werte für die Masse oder die Gesamtmenge Trockensubstanz in den Strukturen des Präparats dadurch überführt, daß die Absorption im biologischen Material mit der Absorption des Referenzsystems verglichen wird. Wenn die Masse der biologischen Probe in der Masse des Referenzsystems ausgedrückt wird, erhält man[18]:

$$\frac{m_a}{k_{H_p}} = \frac{k_{H_{ref}}}{k_{H_p}} \cdot m_{ref} \frac{\left(\frac{\mu}{\varrho}\right) CNO_{ref}}{\left(\frac{\mu}{\varrho}\right) CNO_p}$$

$\frac{m_a}{k_{H_p}}$ ist das Gewicht des biologischen Materials und m_{ref} ist das Gewicht des Referenzsystems. $\left(\frac{\mu}{\varrho}\right)$ ist der Masseabsorptions-

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

koeffizient, berechnet für das Referenzsystem und für das biologische Material. k_H ist ein Korrektionsfaktor für Wasserstoff.

Abb. 3 zeigt eine Übersicht über die Apparatur mit der Röntgenröhre, dem Schalttisch und dem Hochspannungsaggregat. Abb. 4 zeigt ein Einzelbild der wichtigsten Teile, den Kopf der Röntgenröhre, die Vorvakuumpumpe und eine SIEGBAHNsche

Abb. 3.
Übersicht über die Apparatur mit Röntgenröhre, Schalttisch und Hochspannungsaggregat.

Molekularpumpe. Der Kopf der Röntgenröhre ist wassergekühlt und wie die wassergekühlte Anode einstellbar. Die Kathode ist in einem Winkel von 45° gegen die Anode aufgestellt und der Draht ist von einem statischen Schirm umgeben, welcher eine Focusstrahlung auf der Anode gibt. Im Präparathalter ist eine 9 μ dicke Aluminiumhaut, durch welche die Strahlung filtriert wird, so daß das Maximum der Intensität zwischen 8 und 10 Å liegt. Das Präparat liegt im Präparathalter im engen Kontakt mit dem Film,

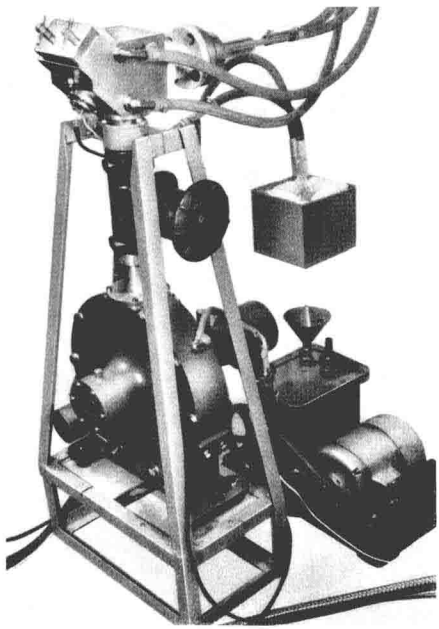


Abb. 4. Der Kopf der Röntgenröhre, die Vorvakuumpumpe und die SIEGBAHNsche Molekularpumpe (s. Text).

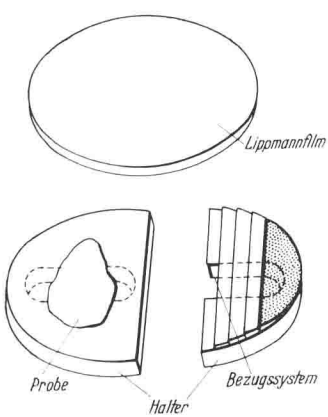


Abb. 5. Das Präparat und das Referenzsystem auf die zwei Hälften des Metallhalters montiert.

und der ganze Halter kann herausgenommen und bei Tageslicht gehandhabt werden.

Abb. 5 zeigt, wie das Präparat und das Referenzsystem je für sich auf einem Metallhalter montiert sind. Letzterer ist mit einer Genauigkeit von 3μ gearbeitet und erlaubt, daß das Referenzsystem die ganze Zeit im Präparathalter verbleibt, während das Präparat ausgetauscht wird.

Die geometrische Unschärfe liegt bei $0.2\ \mu$, also unter dem Auflösungsvermögen des Lippmann-Films. Nach der Entwicklung wird die Transmission im Präparat und im Referenzsystem durch ein selbst registrierendes Mikrophotometer[11] gemessen.

Abb. 6 zeigt die verschiedenen Teile des Mikrophotometers. Das Radiogramm wird in dem binukolaren Mikroskop eingestellt, dessen Objekttisch durch einen Synchronmotor (M) derart angetrieben wird, daß die Geschwindigkeit der des Schreibers (S) angepaßt ist. Für das visuelle Beobachten wird eine Niederdrucklampe und für die Absorptionsmessung eine Wolframbandlampe verwendet. Wenn das Objekt in

dem Mikroskop scharf fokussiert ist, entsteht auch ein fokussiertes Bild in der Ebene der Photozelle (P), die mit einer Irisblende versehen ist. Die Öffnung der Blende wird einem Gebiet von 4 μ^2 im Objekt angepaßt. Während der Messung erlaubt ein Miflex-System (O), daß man das fokussierte Objekt auf einer Matt-

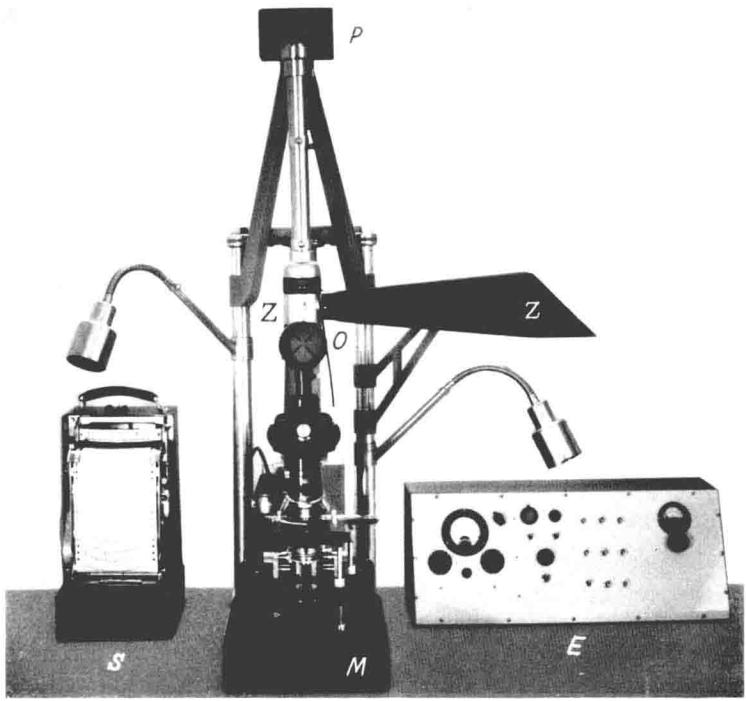


Abb. 6. Übersichtsbild des Mikrophotometers, mit welchem die Absorption im Radiogramm unter visueller Kontrolle gemessen wird (s. Text).

scheibe beobachten kann. Rechts ist der Schalttisch (E) für die elektrische Stabilisierung und Messung. Diese Konstruktion erlaubt eine schnelle Messung des vergrößerten Primärbildes vom Objekt und vom Referenzsystem, wobei man mit dem Auge kontrolliert. Danach wird das Bild der Zelle durch das optische System bei Z auf den Tisch projiziert und unmittelbar planimetriert.

Von den Faktoren, welche möglicherweise Fehler bei den Absorptionsmessungen im Röntgenbild ausmachen können, haben wir

besonders den sog. Eberhardeffekt oder Randeffekt und den Kostinskyeffekt, beides Entwicklungsartefakte, untersucht. Bei bestimmten Verhältnissen können diese Faktoren als Fehlerquellen ganz ausgeschlossen werden.

Einer der wichtigsten Faktoren, die studiert werden müssen, um zuverlässige Werte mit dieser Methode zu erhalten, ist das Referenzsystem, das aus dünnen Nitrocellulosehäuten besteht. Weil die Absorption im biologischen Präparat mit der Absorption im Referenzsystem verglichen wird, muß die Masse beim Referenzsystem durch die Oberfläche bestimmt werden. Ebenso müssen die Häute des Referenzsystems mit hinreichender Genauigkeit hergestellt werden können. BRATTGÅRD und HALLÉN haben die physikalisch-chemischen Faktoren, welche von Bedeutung sind, wenn sich eine Cellulosehaut auf einer Wasseroberfläche bildet, studiert[13] und einen Apparat zur Erzeugung und automatischen Montierung von 0,2—5 μ dicken Cellulosehäuten konstruiert. Die Dicke der einzelnen Häute, welche das Referenzsystem aufbauen, wird in einem YOUNGschen Zweispalt-Interferometer, der in unserem Laboratorium entwickelt wurde, bestimmt[22]. Eine der Spalten im Interferometer wird mit einer Folie des Referenzsystems bedeckt, und man bestimmt die Verschiebung einer Interferenzbande der nullten Ordnung mit einem Mikroskop. Die Methode ist schnell und hat die hohe Genauigkeit von einem Prozent.

Da der Gang der Analyse eine Extraktion von dünnen Schichten Nervengewebe durch Lösungsmittel, oder Digerierung mit einem Enzym in sich schließt, kommen in geringem Grade Veränderungen des Volumens im Präparat vor, welche Veränderungen in der Masse vortäuschen können. Im mikroskopischen Präparat sieht man diese als Schrumpfungen der Oberfläche, welche planimetrisch berechnet werden können und als Korrektionsfaktor bei der mathematischen Behandlung eingeführt werden.

Die Dicke der einzelnen Zellen wird in jedem Fall optisch dadurch bestimmt, daß die Grenzpartikel in der oberen und unteren Außenfläche im Schnitt fokussiert werden. Durch die Anwendungen der Berechnungen von ABBE und BEREK für das vertikale Auflösungsvermögen und die Fokaltiefe wurde eine Methode ausgearbeitet (BRATTGÅRD), um die Schnittdicke mit einer Genauigkeit von $\pm$ 2% zu bestimmen.

Die Totalmenge der Lipide wird bestimmt als Gewichtsunterschied vor und nach der Extraktion des Gefrierschnitts der Nervenzellen mit Chloroform bei 20° nach BRANTE[10]. Um den Fehler zu bestimmen, welcher dadurch entsteht, daß andere Stoffe mitgelöst werden, wurden einige mikrochemische Analysen der Molekularschicht des Kleinhirns gemacht. Kohlenhydrate und Eiweißstoffe bedingen einen Fehler von weniger als einem Prozent. Anorganische Bestandteile, wie Salze verschiedener Art, beeinflussen dagegen die Bestimmung nicht. Elemente der Ordnungszahl zwischen 10 bis 30 können in viel stärkerer Konzentration als sie im biologischen Material nachgewiesen werden, vorkommen, ohne die Berechnungen zu stören.

Nach der Extraktion der Lipide wurde der Schnitt mit kristallisierter Ribonuclease (Worthington Biochemical Laboratories, New Jersey), die frei von proteolytischem Effekt war, behandelt. Auf diese Weise erhält man eine Fraktion, die aus Pentosenucleoproteiden besteht. Entscheidend für die Brauchbarkeit der Methode ist die Frage, ob die Enzymbehandlung auch in solchen Zellen einen Gewichtsverlust erzeugt, welche keine Pentosenucleinsäuren enthalten. In erster Linie denkt man dabei an Eiweißstoffe. Dies wurde an Nervenzellen ausprobiert, welche durch retrograde Reaktion nach Durchschneiden der Axone von Pentosenucleinsäure freigemacht worden sind. Ultraviolettspektrographische Untersuchungen haben früher gezeigt[29], daß 2 Wochen nach solchen Versuchen keine meßbare Absorption bei 2600 Å zu finden ist. In Nervenzellen, denen Pentosenucleinsäuren fehlen, kann nach Behandlung mit Ribonuclease durch die Röntgenmethode kein Gewichtsverlust nachgewiesen werden.

Daß das Enzym Pentosenucleinsäuren auch aus Nervenzellen vollständig entfernt, welche viel davon enthalten, ist früher dadurch bewiesen worden[24, 25], daß nach Digerierung die Absorptionsmaxima bei 2600 Å verschwinden; also entfernt die Ribonuclease die gesamte meßbare Menge von Pentosenucleinsäuren aus Kontrollzellen, verursacht aber keine Gewichtsverluste in Zellen, denen Pentosenucleinsäuren fehlen.

Nur ein Teil der Nucleoproteidfraktionen besteht aus Nucleinsäuren. Aus der Stickstoff-Phosphor-Quote für Pentosenucleinsäuren in der Molekularschicht des Kleinhirns wurde berechnet, daß ungefähr 20% der Fraktion aus Nucleinsäuren besteht, ausgedrückt als Stickstoff.

Nach der Digerierung enthält die Nervenzelle weiterhin bedeutende Mengen Trockensubstanz, die hauptsächlich aus Zelleiweiß besteht. Der Fehler bei dessen Bestimmung steigt bis auf ungefähr 5%.

Fehler der Methode. Es ist unterstrichen worden, daß diese Röntgenmethode nicht mit Fehlern belastet wird, welche durch Streulicht und Reflektion verursacht werden, wie dies bei der Ultraviolettmethode der Fall ist. Aber man muß gewisse systematische und zufällige Fehler auseinanderhalten. Ein positiv systematischer Fehler bis zu 5% wird durch andere Elemente als Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff verursacht, welche sich im biologischen Material befinden. Die Extraktion der Lipide ist mit einem negativen Fehler von weniger als 5% belastet und ein ähnlicher Fehler geht in die zurückbleibende Eiweißfraktion ein. Der totale zufällige Fehler bei einer einzelnen Röntgenbestimmung mit Einschluß des photographischen Prozesses und der Bestimmung der Dicke des Schnittes macht bis 2—3% aus.

Chemische Komponenten des Cytoplasmas.

Mit dieser Röntgenanalyse ist es möglich, selbst an kleinsten Strukturen der Nervenzelle Masse, Zusammensetzung und Verschiebung ihrer Substanz zu studieren. Im folgenden werden einige Beispiele über die Anwendung der Methode und damit gewonnene Ergebnisse gegeben.

Bei den großen Ganglienzellen ist der Zellkörper durch eine große Menge Lipide, Pentosenucleinsäuren und Proteine gekennzeichnet. Röntgenanalysen zeigen, daß die Mengenverhältnisse zwischen den verschiedenen Komponenten wechseln. Als typisches Beispiel solcher Nervenzellen kann man die großen Ganglienzellen im DEITERSschen Nucleus nehmen. Sie sind früher auch mit der Ultraviolettmethode untersucht worden[24] und hinsichtlich der Nucleinsäuren stimmen die quantitativen Resultate dieser beiden Methoden ganz gut überein.

Abb. 7 zeigt einen 5 μ dicken Schnitt durch den DEITERSschen Nucleus bei 8 Å photographiert. Der Schnitt ist frisch, nur vakuumgetrocknet und mit Chloroform extrahiert. Die Zellen treten durch ihre starke Absorption hell hervor, weil dies ein Negativ des Absorptionsbildes ist.

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com