

Zur Chemie der Proteosomen.

Von

O. Loew und Th. Bokorny.

Es wurde früher von uns mitgetheilt, dass durch Coffein und Antipyrin in lebenden Pflanzenzellen kugelige Ausscheidungen — Proteosomen von uns genannt — hervorgerufen werden können, welche zu grösseren Tropfen verschmelzen, äusserst leicht veränderlich sind und viele Eigenschaften mit Eiweisskörpern gemein haben. Wir nannten diesen Stoff: *actives Eiweiss*. Das Produkt hingegen, in welches dieser Stoff sich äusserst leicht umwandelt und welches das ganze Verhalten coagulirter Albuminstoffe zeigt: *passives Eiweiss*.

Die Zellen können in halbprocentigen Lösungen jener Basen mehrere Tage lebend bleiben und beim Versetzen in reines Wasser unter Lösung der Kugeln wieder in den ursprünglichen Zustand zurückkehren.

Andere organische Basen und deren Salze, sowie Ammoniak und Kali können zwar bei grosser Verdünnung ebenfalls Ausscheidungen erzeugen; dieselben verschmelzen aber nicht zu grossen Kugeln und werden sehr bald fest und unlöslich. Offenbar liegen hier innigere Verbindungen des Eiweissstoffes mit den Basen vor, als dort¹⁾.

Wir werden hier lediglich die durch Coffein oder Antipyrin hervorgerufenen Proteosomen behandeln, welche den activen, leicht veränderlichen Proteinstoff noch als solchen oder in äusserst locker polymerisirtem Zustande enthalten. Vor Kurzem wurden von P. Klemm diese Gebilde ebenfalls zum Gegenstande einer Untersuchung gemacht²⁾ und manche unserer Beobachtungen

1) Vgl. O. Loew und Th. Bokorny, Botan. Centralbl. 1889 Nr. 45.

2) Flora, 1892, Heft III.

bestätigt, manche aber angezweifelt, wesshalb wir hier gelegentlich auf seine Mittheilung eingehen.

Die Befähigung zur Proteosomenbildung ist im Pflanzenreiche sehr weit verbreitet, sie findet sich nicht nur bei verschiedenen Algenarten, sondern auch bei den verschiedensten Organen und Geweben höher stehender Pflanzen, z. B. bei Staubfäden von *Eugenia* und *Melaleuca*, bei jungen Blättern von *Mimosa pudica* und *Nymphaea zanzibarensis*, bei jungen Petala von *Drosera*, *Cyclamen*, *Tulipa*, bei gewissen grossen Zellen der *Vallisneria*-Blätter, bei der Epidermis von *Primula sinensis*, bei unreifen Schneebeeren und jungen Haaren verschiedener Pflanzen.

Mikroskopische Dauerpräparate stellt man am besten so her, dass man die Objecte (starke Cuticula schabt man thunlichst ab) zuerst einen Tag in einer 0,5 procentigen Coffeinlösung liegen lässt, hierauf ebensolange in einer 0,1 procentigen Ammoniaklösung¹⁾, dann nach Extraction von Fett und Chlorophyll durch Aether-Alkohol in äusserst verdünnter Methylgrünessigsäure färbt und in mit Essigsäure angesäuertem verdünntem Glycerin einbettet. Solche Präparate von Spirogyren oder Petala von *Drosera* sind geradezu überraschend.

Die Zeit des Eintritts der Reaction hängt natürlich vom Eindringen des Coffeins ab. Oft genügen wenige Minuten, bei gewissen Objecten kann es weit länger dauern, selbst wenn man die Coffeinlösung bei 15—18° gesättigt (1,3 0/0) nimmt.

Was die Lage der Ausscheidungen betrifft, so bilden sie sich bei Spirogyren und manchen sonstigen Objecten sowohl im Cytoplasma als auch im Zellsaft, bei andern nur im Cytoplasma oder nur im Zellsaft. Dass sie bei Spirogyren auch im Plasma auftreten, erhellt schon daraus, dass man sie bei hoher Einstellung oft über dem Chlorophyllband liegen sieht. Klemm meint dagegen, die Plasmolyse allein könne hier entscheiden (was entschieden zu weit gegangen ist) und fügt hinzu (l. c. S. 408): „Diesen Weg hat Bokorny bei Spirogyren verfolgt und kommt zu dem Ergebniss, dass hier sowohl im Plasma wie im Zellsaft Ausscheidungen gelegen sind, was ich bei den darauf angestellten Versuchen bestätigt

1) Bei dieser Ammoniakbehandlung gewahrt man an den Proteosomen — besonders bei kleineren Spirogyraarten — oft die Bildung sackartiger „Auswüchse“, was wohl darauf beruht, dass zuerst die äusserste Hülle der Kugeln erstarrt und bei ihrer Contraction den flüssigen Inhalt herauspresst, der nun momentan auch erstarrt. Bei andern Objecten gewahrt man manchmal Risse in der zuerst entstehenden Haut. Vgl. übrigens auch O. L. und Th. B. in Biol. Centralbl. XI. S. 10.

fand¹⁾. Im Uebrigen hat der Eine von uns (B.) nicht bloss diese Methode angewandt, sondern auch eine andere ebenso beweisende und dabei einfachere, nämlich die durch Reiz erfolgende Vacuolenwandcontraction, welche bei vielen Objecten ohne Weiteres eintritt durch 1 promille Coffeinlösung selbst²⁾. Es ist das eine höchst merkwürdige Erscheinung, ein besonderer Fall von Aggregation, der zugleich an Plasmolyse erinnert, aber doch davon verschieden ist; denn durch eine nur 0,1 procentige Coffeinlösung kann wohl keine gewöhnliche Plasmolyse eingeleitet werden. Klemm hat freilich diesen Fall nicht in Betracht gezogen.

Die Eiweissnatur der Proteosomen kann wohl nicht bestritten werden, wenn wir auch zugeben, dass mancherlei andere Stoffe des Zell-saftes in denselben eingeschlossen werden können. Wir haben ja längst selbst darauf hingewiesen, dass Gerbstoff und Lecithin darin oft vorhanden sind³⁾. Was zunächst eine Verwechslung mit Gerbstoffniederschlägen betrifft, so ist eine solche wohl kaum denkbar. Das gerbsaure Coffein besteht zwar aus minimalen Kügelchen, sie fliessen aber nicht zu grossen Tropfen zusammen; es löst sich ferner mit Leichtigkeit bei Behandlung mit Ammoniak, während die Coffeinproteosomen im Gegentheil dadurch einen so hohen Grad von Beständigkeit annehmen, dass sie in kochendem Wasser weder schrumpfen, noch ihre Kugelform in irgend welcher Weise ändern. Das gerbsaure Antipyrin bildet einen äusserst feinen pulverigen Niederschlag, ebenfalls leicht in verdünntem Ammoniak löslich. Ein Aggregationsvorgang, der sich am activen Eiweiss abspielt, hat einen ganz anderen Charakter als die Bildung eines solchen Niederschlags.

Der directe Nachweis der Eiweissnatur der Proteosomen durch die bekannten mikrochemischen Reactionen stösst bei sehr kleinen Kügelchen allerdings auf Schwierigkeiten, nicht aber bei den grösseren zusammengeflossenen Tropfen. Sehr deutlich und intensiv

1) Dem gegenüber lautet es befremdend, dass Klemm kurz vorher schreibt: „Diese Beobachtungen bedürfen einer Controlle.“

2) Th. Bokorny, Pringsh. Jahrb. XX. Heft 4.

3) Auf das Vorhandensein von Lecithin (das Klemm bezweifelt) schlossen wir aus der Schwärzung mit äusserst verdünntem Osmiumtetroxyd, auf welches in gleicher Zeit Gerbstoff nicht mehr wirkt. Wenn es uns gelungen sein wird, lecithinreiche Spirogyren zu züchten (bei Abwesenheit von Gerbstoff), werden wir unsere Folgerung noch besser begründen. Dass übrigens den Zygnemaceen Lecithin nicht fehlt, haben wir früher gezeigt. (Pflüg. Arch. **25**, 156. Journ. f. prakt. Chem. **36**: 273). Wir haben in *Zygnema* ausser Lecithin noch Cholesterin und Bernsteinsäure nachgewiesen.

erhält man Millon's-Reaction, wenn man die Objecte 8 bis 10 Stunden in einer mit nicht zu wenig Kaliumnitrit versetzten ziemlich concentrirten Lösung von Mercurinitrat liegen lässt, um dem Reagens Zeit zu geben, in die (coagulirten) Kugeln einigermaassen einzudringen, hierauf kurze Zeit zum Sieden erhitzt. — Die Biuret-Reaction gelang Klemm nicht, weil die frischen Proteosomen sich leicht in Kalilauge lösen. Wenn man aber die durch Ammoniak fixirten Proteosomen¹⁾ nimmt, so gelingt die Reaction sehr gut. Man lässt auf diese ca. 12 Stunden bei 16—18° eine mässig concentrirte Lösung von essigsauerm Kupfer einwirken und betupft die abgewaschenen Objecte mit sehr verdünnter Kalilauge. Die Gelbfärbung mit Jod²⁾, die Blutlaugensalzreaction und die Farbstoffspeicherung auch bei gerbstofffreien Proteosomen haben wir früher ebenfalls schon beschrieben³⁾.

Interessanter und noch charakteristischer ist aber das ganze sonstige Verhalten. Verdünnte Säuren, welche die Zellen rasch tödten, führen auch die Proteosomen rasch in einen wasserunlöslichen Zustand über. In diesem Zustande wirkt selbst eine 10 procentige Phosphorwolframsäure nicht lösend, sie bleiben nach Wochen ungelöst und undurchsichtig, während eine 10 procentige Salzsäure bei 18° nach mehreren Tagen aufquellend und schliesslich lösend wirkt, was nun genau dem Eiweisscharakter entspricht.

Auch im Verhalten gegen kochendes Wasser, sowie gegen Alkohol finden wir wieder die Analogie mit Eiweissstoffen.

Wenn es auch richtig ist, dass man häufig die Coagula nicht mehr deutlich erkennen kann, wenn man Objecte mit Proteosomen direct in kochendes Wasser taucht, so werden doch die coagulirten Kugeln sehr schön sichtbar, wenn man vor dem Eintauchen dem kochenden Wasser noch 1—5% Kochsalz zusetzt. Es ist ja eine bekannte Thatsache, dass sehr salzarme Eiweisslösungen beim Kochen nicht gerinnen und erst Zusatz von neutral reagirenden Salzen sofortige Coagulation zu Stande bringt. Das ist z. B. der Fall beim Eiweiss der Eier der Nesthocker, wenn man es mit dem 4fachen Vol. Wasser verdünnt und kocht. Erst Salzzusatz bedingt hier Gerinnung.

Durch verdünnten Alkohol werden die Proteosomen bald in den unlöslichen Zustand übergeführt, nach kurzem Verweilen in 10procentigem Weingeist sind die Kugeln trübe geworden und geschrumpft. Unter

1) Siehe oben bei „Dauerpräparate“.

2) Da Antipyrin selbst Jod unter Bräunung bindet, so sind hiezu nur die Coffeinproteosomen verwendbar.

3) Botan. Centralbl. 1889 Nr. 39.

dem Mikroskop lässt sich die Umwandlung beim Behandeln mit 10 bis 20 procentigem Weingeist an Spirogyren sehr schön verfolgen. Die gebildeten compacten Massen oder auch Hohlkugeln werden weder von Wasser noch von absolutem Alkohol gelöst.

Verfährt man dagegen so, dass man die Objecte sofort mit 80—90 procentigem Alkohol behandelt, so wird das Coffein (resp. Antipyrin) den Zellen so rasch entzogen, dass die meisten Proteosomen schneller sich wieder lösen¹⁾, als Coagulation erfolgen kann, wozu eben doch das Eindringen einer grösseren Alkoholmenge erforderlich ist. Man sieht dann nur an Stelle der grösseren Proteosomen ein dünnes Gerümsel, kleinere scheinen völlig verschwunden zu sein. Das feine Coagulum ist eben durch den ganzen Zellinhalt vertheilt. Klemm hat diese Erscheinung als eine Lösung durch Alkohol aufgefasst und deshalb die Eiweissnatur des Proteosomen anzweifeln zu müssen geglaubt²⁾.

Mässig concentrirte Natronlauge wirkt lösend auf die Proteosomen. Verdünntes Ammoniak (0,1^o/₁₀) wandelt sie in feste Kugeln um, welche durch Druck in Stücke zerbrechen. Die so veränderte Substanz kann durch 10 procentige Salzsäure erst nach längerer Digestion bei 80° in Lösung gebracht werden, welcher Lösung wohl chemische Veränderungen vorausgehen werden. Durch dieses Verhalten zu Ammoniak ist jener Eiweissstoff der Proteosomen scharf vom gewöhnlichen Eiweiss unterschieden, welches gegen verdünntes Ammoniak ganz indifferent ist. Die Eigenschaften jenes Produktes sind nicht etwa diejenigen einer salzartigen Verbindung, sondern solche, wie wir sie in vielen Amidderivaten wahrnehmen.

Wieder ganz verschieden von diesem mit Ammoniak erhaltenem Produkt sind diejenigen Proteosomen, welche nach dem Absterben der Zellen eine „spontane“ Umänderung erlitten haben. Lässt man z. B. Spirogyren 5—6 Tage in einer 0,5 proc. Coffeinelösung, so fangen einzelne Zellen an abzusterben und die darin vorhandenen

1) Wir haben ja schon früher mitgetheilt, dass z. B. beim Eintauchen der Objecte in 25° warmes Wasser die Lösung der Coffeinkugeln durch Coffeinentziehung blitzschnell erfolgt.

2) Das Verhalten zu Verdauungsfermenten ist ebenfalls einer Prüfung werth. Es wurde bis jetzt so viel beobachtet, dass Pepsinsalzsäure nach mehrtägiger Digestion die in 40° warmer Coffeinelösung zur Gerinnung gebrachten Spirogyra-Proteosomen löste, allein der Controllversuch mit Salzsäure allein ergab ebenfalls Lösung. Es bleibt noch nachzuweisen, dass dort Peptonisirung stattfand, hier aber nicht. Mit Ammoniak behandelte Coffeinproteosomen dagegen wurden nicht angegriffen, was nicht Wunder nehmen kann, denn es wird auch die Phosphorsäureverbindung des Albumin (das Nuclein) nicht verdaut.

Proteosomen werden hierauf zuerst trübe von zahlreichen kleinen Hohlräumen, allmählich aber unter bedeutender Contraction wieder durchscheinend, wobei die Hohlräume wieder verschwinden oder zu einigen wenigen sich vereinigen¹⁾. Manchmal beobachtet man auch die Bildung eines einzigen grossen Hohlraums ohne Contraction der Kugel. Bei diesem „Absterben“ der Proteosomen wird zuerst die äusserste Schichte ergriffen und in eine feste Haut verwandelt. In einem solchen Stadium befindliche Zellen hinterlassen bei verschiedenen Einwirkungen die häutige Hülle. Der merkwürdige Umstand, dass beim Absterben der Zellen auch die Proteosomen bald früher, bald später — öfters schon wenige Minuten nach dem Tode — eine Veränderung erleiden, wird von Klemm nicht berührt und doch ist das gerade das Interessanteste an den durch Coffein oder Antipyrin hervorgerufenen Proteosomen!

Während die glänzenden flüssigen Coffeinproteosomen in noch lebenden Zellen Ammoniak binden, sind die durch das Absterben der Zellen fest gewordenen Proteosomen gegen Ammoniak indifferent. Jene frischen Proteosomen verschwinden bald, wenn die Zellen mit verdünnter Sodalösung behandelt werden, diese aber bleiben feste kugelige Gebilde; dort kann eben während des Absterbeprocesses die Soda mit einwirken, hier aber ist der Gerinnungsprocess vorher schon vollendet. Die Kugeln der noch lebenden Zellen lösen sich beim Erwärmen mit Wasser bei 25—30^o rasch und völlig auf, diejenigen der bereits abgestorbenen Zellen aber bleiben dabei ganz unverändert. Jene weisen manche Eigenschaften auf, welche den gewöhnlichen Eiweissstoffen nicht zukommen, diese aber zeigen alle Eigenschaften der gewöhnlichen geronnenen Eiweissstoffe. Jener active Eiweissstoff ist in einen passiven umgewandelt.

Stoffe, welche schädlich auf die Zellen wirken, verändern auch auffallend rasch die Coffeinproteosomen. Manchmal genügt es, eine 1 promille Essigsäurelösung 15 Minuten wirken zu lassen, um die frischen glänzenden Proteosomen undurchsichtig zu machen.

Eine 2 proc. Blausäure wandelt die frischen Proteosomen bald in Hohlkugeln um. Werden einprocentige Lösungen von schwefelsaurem Diamid oder salzsaurem Hydroxylamin mit Soda genau

1) Seltener beobachteten wir, dass die Proteosomen schon vor dem Tode der Zellen sich veränderten und die unlösliche Form annahmen. Die frischen flüssigen Proteosomen sind offenbar sehr wasserreich, während die durch Umwandlung daraus gebildete feste Substanz ein weit geringeres „Imbibitionsvermögen“ besitzt.

neutralisirt und Spirogyrafäden mit Proteosomen eingelegt, so sind letztere nach 15 Minuten geronnen und trübe ¹⁾. Neutraler Formaldehyd (10%) tödtet die Zellen momentan und bald darauf sieht man auch zahlreiche und kleine Höhlungen in den Kugeln sich bilden, denselben ein stark trübes Ansehen verleihend. Von Kalilauge werden diese Kugeln nun sehr schwer angegriffen, ganz wie die Verbindung von Formaldehyd mit Propepten, welche der eine von uns einmal darstellte ²⁾.

Wenn man Spirogyrafäden, grosse Coffeinproteosomen enthaltend, dem Dunste von Aether aussetzt, so ist nach einigen Secunden der Tod der Zellen eingetreten und wenige Minuten nachher fangen auch die Proteosomen des Zellsaftes an, durch zahlreiche kleine Höhlungen trübe zu werden und nach 20 Minuten sind fast sämmtliche Proteosomen angegriffen. In kochendem Wasser verändern sich diese Gerinnsel nicht, sie werden nicht gelöst, in Alkohol schrumpfen sie zu häutigen Massen, in Kalilauge quellen sie bald auf.

Aber auch wenn noch nicht zu Proteosomen geballt, verändert sich der Eiweisskörper der Vacuolen sehr rasch. Wenn man z. B. mehrere Fäden von *Spirogyra Weberi* mit einer sehr verdünnten, schwach gelben Jodlösung eine Minute in Berührung lässt, so kann man mit Coffein noch in allen Zellen sofortige Proteosomenbildung erzeugen. Lässt man jene Jodlösung aber 4 Minuten wirken, so reagirt nur noch ein Theil der Zellen, nach 10 Minuten dauernder Wirkung aber gibt keine einzige Zelle mehr Spuren von Proteosomen mit Coffein ³⁾. Nun könnte man einwenden, der Proteosomen liefernde Körper sei eben herausdiosmirt bei dem Tode des permeabel werdenden Plasmeschlauches. Wenn das wahr wäre, so müssten doch die Proteosomen mit der Flüssigkeit erhalten werden, in der die Fäden sich zur Zeit des Absterbens befanden. Allein man erhält selbst dann, wenn man möglichst viele Fäden in nur einigen Tropfen sehr verdünnter Jodlösung absterben lässt, keine Spur von Proteosomen in der die sterbenden Fäden umgebenden

1) Ueber die Giftwirkung jener Substanzen vgl. O. Loew, Pflüg. Arch. **32**, 114, und Ber. D. Chem. Ges. **23**, 3203.

2) O. Loew, Jahresber. f. Thierchemie 1888 S. 273.

3) Klemm theilt eine Beobachtung mit, dass chloroformirte Zellen noch mit Coffein Proteosomen lieferten. Die Objecte lagen 5—10 Minuten in halbgesättigtem Chloroformwasser. Dieser Versuch beweist aber lediglich — falls die Zellen wirklich schon abgestorben waren —, dass die Veränderung des Zellsafteiwisses etwas langsamer erfolgt, als das Absterben des Plasmas, was wir ja auch beim Aetherversuch erwähnten. Ein paar Minuten später hätte er schon vielleicht keine Reaction mehr bekommen.

Flüssigkeit. Es bleibt also keine andere Alternative als die, dass sich der Proteosomen liefernde Stoff verändert hat und deshalb der Contactwirkung nicht mehr zugänglich ist (sich nicht mehr polymerisiren kann). Das gilt auch für die Silberreaction bei gerbstofffrei gezüchteten Spirogyren¹⁾. Bei solchen silberreducirenden Spirogyren lässt sich nach Kochen mit selbst sehr wenig Wasser keine Spur eines reducirenden Stoffes im Filtrat nachweisen, während doch die lebenden Zellen reduciren²⁾, die ausgekochten aber nicht. Wenn Klemm hier meint (l. c. S. 407): „Die Ausscheidungen sind deshalb zur Reduction befähigt, weil sie durch den Ausscheidungsvorgang in concentrirtem und localisirtem Zustand erhalten, an der Diffusion verhindert werden“, so müssen wir diese Ansicht als unzutreffend bezeichnen. — Der reducirende Stoff hat offenbar durch Atomverschiebung die reducirende Gruppierung eingebüsst, ein chemisch sehr leicht denkbarer Vorgang! Dass der labile Stoff der Vacuole sich leicht verändert, kann ja an den Proteosomen mit dem Mikroskop verfolgt werden: die flüssigen Kugeln werden fest und hohl, sowie resistent gegen verschiedene Einflüsse. {Diese physikalischen Veränderungen hängen offenbar von chemischen ab. Mit dem Einwand, dass sich die Vorgänge in den Zellen der Forschung entziehen und dass unbekannte local getrennte Stoffe sich beim Tode mischen, ist nichts gedient. Die Proteosomen entstehen ja sogar in local getrennten Medien: im Cytoplasma und Zellsaft!

Wir behaupten nun keineswegs, dass in den verschiedenen Objecten stets ein- und dasselbe active Eiweiss vorkommt oder dass in einer Zelle stets nur ein activer Eiweisskörper vorhanden ist. Es gibt einerseits offenbar viele stereochemische Isomere des coagulablen Albumins³⁾, die alle aus dem gleichen Pepton entstehen können — je nach dem Verlauf der Polymerisation —, andererseits können in manchen Zellen auch die Vorstufen: actives Pepton, actives Propepton, sowie active Nucleinverbindungen vorhanden sein, wesshalb wir auch schon vor mehreren Jahren den allgemeineren Ausdruck: „actives Protein“ benützten. Der Grad der flüssigen Beschaffenheit, sowie der Grad der Fällbarkeit des Vacuolenproteins durch Salze bei plötzlichem Abtöden der Zellen (bei Jodzusatz z. B.)⁴⁾ mag von jenen Beimengungen bedingt sein.

1) Botan. Centralbl. 1889 Nr. 39.

2) Nach vorausgehender Granulation durch das NH_3 der Silberlösung.

3) Die gröberen chemischen Mittel reichen hier freilich nicht aus, die Unterschiede festzustellen.

4) Hierüber wird der Eine von uns später Weiteres berichten.

Physiologische Beziehungen des in der Vacuole gelösten activen Proteins.

Wenn das active Protein des Zellsaftes zur Bildung des lebenden Plasmas in naher Beziehung steht, so muss es durch Förderung des Wachstums bei gleichbleibender oder noch besser ver- hindelter Eiweissbildung bald verbraucht werden. Ander- seits muss sich eine bedeutende Speicherung nachweisen lassen, wenn die Eiweissbildung mehr begünstigt wird als die Wachstumsvorgänge. Das lässt sich nun mit unserer Coffeinreaction leicht bestätigen. Wir haben schon früher eine Nährlösung angegeben, welche das Wachs- thum rascher fördert als die Eiweissbildung¹⁾, noch besser aber ist folgende, in welcher die Nitrate völlig fehlen:

0,05 % Calciumsulfat
0,02 % Calciumbicarbonat
0,02 % Magnesiumsulfat
0,005 % Monokaliumphosphat
Spur Eisenchlorid.

In mehrere Liter dieser Lösung bringt man eine nur geringe Spirogyrenmenge (Spir. Weberi). Nach mehreren Wochen Stellen im zerstreuten Tageslicht bei 16—18° liefern die stärkearmen Zellen nur noch leise Spuren punktförmiger Ausscheidungen mit Coffein. Es fehlen die Stickstoffverbindungen, Eiweissneubildung ist also unmöglich und die wachsenden Zellen sind lediglich auf das bereits gespeicherte active Protein angewiesen, das allmählich völlig verbraucht wird. Eine bedeutende Speicherung dagegen gelingt, wenn man bei Gegenwart aller Nährsalze besonders die Menge des Kaliumnitrats vermehrt, indem dadurch die Kohlenstoffassimilation zunächst bedeutend angeregt wird und die dadurch in grösseren Mengen disponibel werdende Glucose auch die Dissociation und Reduction der Sulfate und Nitrate, esp. die Eiweissbildung energisch befördert, so dass man bei Anwendung einer eiweissarmen Spirogyra schon nach einigen Wochen eine überaus starke Proteosomenbildung mit Coffein erzielen kann. Eine solche Nährlösung ist z. B.:

0,05 % Kaliumnitrat
0,03 % Calciumnitrat
0,005 % Magnesiumsulfat
0,005 % Monokaliumphosphat
Spur Eisenchlorid.

1) O. Loew und Th. Bokorny, Biol. Centrabl. IX Nr. 1.

In dieser Lösung ging bei *Spirog. nitida* und *Sp. majuscula* die Eiweissbildung so rasch vor sich, dass keine erhebliche Stärkemenge mehr gespeichert wurde, sondern alles gebildete Kohlehydrat in Form von Glucose zu Eiweissbildung diente¹⁾. Nach 24 Tagen zerfielen die Algenfäden in kleine Stücke und einzelne Zellen — wahrscheinlich wegen gesteigerten Turgors. Coffein brachte bei der *Spirogyra majuscula* dann geradezu enorme Ausscheidungen hervor, ja schon ohne Coffeinbehandlung sah man in vielen Zellen dieser Alge kugelige Ausscheidungen!

Es lässt sich ferner leicht beobachten, dass *ceteris paribus* schon Temperaturverhältnisse einen erheblichen Einfluss auf die Menge des gespeicherten activen Proteins ausüben. So beobachteten wir bei *Spirogyra majuscula*, welche im botanischen Garten zu München wuchs, im September, als nach länger andauerndem heissem Wetter plötzlich eine 8 Tage dauernde nasskalte Witterung (8—10° C.) eintrat, ein auffallendes Ansteigen der Proteinmenge im Zellsaft. Offenbar war das Wachstum mehr beeinträchtigt worden als die Eiweissbildung. Als nun wieder heisses Wetter folgte, war bald mit Coffein nur eine auffallend geringe Proteosomenbildung im Zellsaft zu beobachten (die Abnahme der Reaction im Cytoplasma²⁾ war weniger merklich). Zu Anfang des Frühjahres bemerkt man ferner eine bedeutende, in Mitte des Sommers nur geringe Speicherung bei den Spirogyren. Klemm schliesst freilich aus einem Versuche, dass das active Eiweiss der Zellvacuole nichts für das Wachstum der Zellen bedeute, allein einerseits beweisen unsere Versuche das Gegentheil, andererseits ist sein Versuch nicht einwandfrei. Er züchtete Spirogyren in Knop'scher Nährlösung von $\frac{1}{8}$ ‰ Salzgehalt und einem Coffeingehalt von 0,01‰ bis 0,001‰. Er beobachtete dabei Wachstum, trotzdem das active Eiweiss durch Coffein in Kugeln ausgeschieden war, und folgerte daraus, dass das Protoplasma auch ohne das active Eiweiss des Zellsaftes gebildet werden könne. Dagegen ist einzuwenden, dass so verdünnte Lösungen keineswegs das gesammte active Eiweiss zur Ausscheidung bringen, wie er ja selbst an anderer Stelle hervorhebt (l. c. S. 403) und wie bei nachheriger Ammoniakbehandlung auch

1) Da Licht zur Glucosebildung nöthig ist, so erklärt sich auch, warum es der Eiweissbildung in den assimilirenden Zellen förderlich ist. Es liegt bei den von Schimper und von Klebs gemachten Beobachtungen sicher nur dieser indirecte Einfluss des Lichts auf die Eiweissbildung vor! Vgl. O. Loew, Biol. Cbl. X, 582.

2) Vgl. hierüber auch Th. Bokorny, Pringsh. Jahrb. XX, S. 470.

deutlich durch eine Neu-Ausscheidung bewiesen werden kann¹⁾. Ferner ist zu berücksichtigen, dass eine Neubildung von Protoplasma auch auf Kosten solchen neugebildeten Eiweisses erfolgen kann, das noch nicht der Ballung zugänglich war. Es gibt ja Organismen, z. B. *Sphaeroplea annulina*, bei denen es unter keinen Umständen gelingt, mit Coffein gespeichertes actives Eiweiss nachzuweisen; hier wird das gebildete active Eiweiss sofort zum Bau der Organe und zur Sporenbildung verwendet.

Theoretische Bemerkungen.

Wir haben oben gesehen, dass das zu Proteosomen geballte active Eiweiss des Zellsaftes bei schädlichen Einflüssen sich bald nach dem Tode der Zellen ebenfalls verändert, es ist also nahezu, aber nicht ganz gleich empfindlich wie die lebende Materie selbst. Demgemäss dürfen wir uns auch nicht wundern, wenn manche Reactionen mit ersterem noch erhalten werden können, welche mit den lebenden Organoiden nicht mehr gelingen. Hieher gehört vor Allem die Reduction von alkalischer Silberlösung, welche in gehöriger Weise nur gelingt, wenn letztere Ammoniak oder ein Derivat desselben enthält. Der Verlauf dieser Reaction bei den Coffeinproteosomen ist offenbar der, dass dieselben zuerst Ammoniak binden und so ein weit beständigeres Produkt liefern, als das ursprüngliche ist, das aber immer noch silberreducirende Eigenschaften besitzt. Es gibt einerseits keine Verbindungen, welche etwa durch Behandlung mit verdünntem Ammoniak erst silberreducirend werden, andererseits sind keine anderen Verbindungen als die Aldehyde bekannt, welche bei Bindung von Ammoniak silberreducirend bleiben. Wenn Aldehyde Ammoniak binden, so entstehen bekanntlich nicht etwa Salze, sondern, wie jeder in den Anfangsgründen der Chemie Bewanderte weiss, Amidoderivate der zugehörigen Alkohole, die noch dasselbe Reducionsvermögen besitzen. Es ist daher gar nicht auffallend, dass, wenn Zellen mit Coffeinproteosomen durch verdünntes Ammoniak getödtet werden, die Proteosomen noch lange nachher silberreducirend bleiben, während beim Tödteten durch Säuren dieselben ihr Silberreducions-

1) Man lasse z. B. Spirogyren 6—12 Stunden in einer 1 promille Coffeinelösung und, wenn die kleinen Kügelchen unter Wiederhellwerden der Zellen zu grösseren zusammengeflossen sind, nun eine 1 promille NH_3 -Lösung wirken. Bald trübt sich nun die Zelle aufs Neue durch zahlreiche minimale Körnchen.

vermögen fast so schnell verlieren als die Zellen absterben. Es ist das ein Verhalten, das die Aldehydtheorie voraussehen liess!¹⁾

Unser Schluss, dass die lebenden Organoide selbst ebenfalls Aldehydgruppen enthalten, aber nur deshalb nicht reduciren, weil sie zu schnell absterben, ist wohl nicht so unberechtigt als Klemm meint; denn unsere weitere Folgerung, dass alle jene Substanzen, welche bei grosser Verdünnung noch in Aldehyde eingreifen, auch Gifte für alles Lebendige sein müssen, hat sich ja vollauf bestätigt. Besonders sei hier auf das Verhalten der Organismen gegen Hydroxylamin, Diamid und Phenylhydrazin hingewiesen. Das active Pepton, active Propepton und active Eiweiss sind Zwischenstufen zwischen Asparagin auf der einen und der lebendigen Materie auf der anderen Seite. Aus dem Asparagin wird höchst wahrscheinlich durch reducirenden Einfluss der Glucose unter dem Einflusse der Lebensthätigkeit der Aldehyd der Asparaginsäure gebildet, aus diesem durch fortschreitende Condensation unter Eintritt von Wasserstoff und Schwefel das active Pepton, aus diesem durch Polymerisation actives Propepton und actives Eiweiss²⁾ und aus letzterem, sowie dem daraus gebildeten activen Nuclein durch Organisation die lebendige Materie. Die Bildung von activem Eiweiss aus Asparagin erscheint so nicht viel complicirter als die von Zucker aus Formaldehyd. Aber auch das Vorhandensein einer äusserst lebhaften Atombewegung³⁾,

1) Die Hauptunterschiede zwischen activem und passivem Eiweiss sind folgende: Das Attractionsvermögen für Wasser ist weit grösser beim activen als beim passiven Eiweiss.

Schon 10 procentiger Alkohol bringt das active zur Gerinnung, das passive aber nicht. Aetherdunst wandelt bald nach Tödtung der Zellen das active Eiweiss des Zellsaftes in passives um.

Actives Eiweiss bindet Ammoniak und wird dadurch unlöslich, während passives gegen verdünntes Ammoniak indifferent ist, coagulirtes aber durch concentrirteres Ammoniak gelöst wird. Actives Eiweiss reducirt verdünnte alkalische Silberlösung, passives ist wirkungslos bei gewöhnlicher Temperatur und im Dunkeln. Schon sehr verdünnte Säuren vernichten jenes Silberreductionsvermögen.

2) Ueber die Hypothese der Eiweissbildung aus Asparagin siehe: O. Loew und Th. Bokorny, Die chemische Kraftquelle im lebenden Plasma Theil I.

3) Vgl. O. Loew, Chemische Bewegung, Biol. Centralbl. IX Nr. 16. Zwischen der Lebenskraft und einer Lebensfunction besteht noch ein ebenso grosser Unterschied, wie zwischen activem Eiweiss und lebendem Protoplasma, worauf wir ja wiederholt hingewiesen haben. Zu lebendem Protoplasma und Lebensfunction gehört noch der Organisationsbegriff. Lebensfunction erscheint als die Leistung einer Maschine, in welcher die Lebenskraft wirksam ist, welche letztere als eine durch sehr labile Atomstellungen herbeigeführte eigenartige Atombewegung aufzufassen ist.

welche der Grund verschiedener Lebensthätigkeiten ist, wird leicht begreiflich, wie anderseits das leichte Absterben, die Umwandlung in passive Materie weniger räthselhaft erscheint. Die merkwürdigste der Eigenschaften der lebendigen Materie aber, die Irritabilität in den verschiedensten Formen, die Reagirfähigkeit auf Einflüsse der verschiedensten Art, wie Schwerkraft, Licht, chemische Reize etc., sie wird nur dann einigermaassen begriffen werden können, wenn man der diesbezüglichen zukünftigen Theorie die Gesetze chemisch labiler Substanzen zu Grunde legen wird.

Wir haben oben gezeigt, dass dann, wenn die Eiweissbildung mehr begünstigt wird als das Wachstum, das nicht organisirte active Protein sich ansammelt und dass es — was von grossem Interesse ist — nicht nur in der Vacuole, sondern auch im Cytoplasma gespeichert wird. Wir haben ferner dargethan, dass, wenn umgekehrt das Wachstum mehr befördert wird als die Eiweissbildung, ein Verbrauch von gespeichertem activem Protein stattfindet.

Wir haben ausser Zweifel gestellt, dass der von uns actives Eiweiss resp. actives Protein genannte Körper die frappanteste Aehnlichkeit mit der lebenden Materie selbst verräth. Seine äusserst labile Natur kann nicht mehr bezweifelt werden und wenn Klemm meint¹⁾: „Nach alledem ist der Werth des Umstandes, dass die Aggregation eine Lebensreaction ist, für den Nachweis, dass der reagirende Körper ein durch ausserordentliche Labilität ausgezeichneter Stoff sein müsse, entschieden in Abrede zu stellen“, so überlassen wir es getrost dem Leser, aus den hier beschriebenen Thatsachen sich ein eigenes Urtheil zu bilden.

München, im October 1892.

1) l. c. S. 406.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung](#)

Jahr/Year: 1892

Band/Volume: [76](#)

Autor(en)/Author(s): Loew Oscar, Bokorny Thomas

Artikel/Article: [Zur Chemie der Proteosomen. 117-129](#)