Zur Analogie zwischen lebender Materie und Proteosomen.

Von **Oscar Loew.**

Die von Th. Bokorny und mir[1]) beschriebenen, mit Koffein in vielen Pflanzenzellen erzeugten glänzenden Tropfen, Proteosomen genannt, sind nach unserer Auffassung im wesentlichen der labile Eiweißstoff, der das Material zum Aufbau des lebenden Protoplasmas darstellt. Alles, was die Zelle tötet, wirkt auch, wenn auch meist langsamer, koagulierend auf die Proteosomen und aus diesen stark lichtbrechenden Tropfen werden unter Vakuolenbildung hohle, feste, nicht mehr im Wasser lösliche Gebilde. Da nun ein chemischer Unterschied des Protoplasmas in lebenden und toten Zellen durch spezifische Färbungen nachgewiesen werden kann, wandte ich diese charakteristischen Reaktionen auch auf die Proteosomen im frischen, labilen, sowohl als auch den koagulierten, stabilen Zustand derselben an. Hieraus ergab sich eine vollständige Analogie des Verhaltens von Protoplasma und Proteosomen.

Mosso[2]) empfahl Methylgrün zur Entscheidung, ob Protoplasma abgestorben ist. Das Methylgrün wurde von ihm zu 2% in einer 0,8 bis 1%igen Kochsalzlösung gelöst, angewandt. Lebende Zellen färben sich damit violett, tote grün. Die Versuche wurden mit Leukozyten, Flimmerepithel, Haaren von Tradescantia virginica usw. und anderen Objekten ausgeführt.

Rhumbler[3]) versuchte eine Mischung eines sauren Farbstoffes (Eosin) mit einem basischen (Methylgrün). Nach Ruzika sind diese Versuche jedoch nicht einwandfrei, weil Methylgrün zu giftig wirkt und die Zellen rasch tötet. Er schlägt eine Mischung vor von Neutralrot und Methylenblau, welche beide Farbstoffe basischer Natur sind[4]). Er mischte 0,05%ige Lösungen beider Farbstoffe. Granula von Leukozyten färbten sich in dieser Lösung rot, solange die Leukozyten lebend waren, in abgestorbenen Leukozyten aber färbten sie sich blau. Amöben färbten sich rot, solange sie Bewegung zeigten, beim Absterben wurde die an-

---

1) Siehe besonders Flora 1895, pag. 68; Bd. CII, pag. 113; Bd. CVII, pag. 111; ferner O. Loew, Die chemische Energie der lebenden Zellen, II. Aufl., Kap. 7 u. 8.

2) Virch. Arch., Bd. CXIII, pag. 397 [1888].

3) Zool. Anzeig., Bd. XVI, pag. 47 [1893].

4) Pflüg. Arch., Bd. CVII, pag. 497.

fängliche Färbung blau und zwar sowohl der Zellkern, als auch die Granula. Muskelfasern und Flimmerepithel zeigten dieselben Unterschiede im lebenden und toten Zustande. Bakterien und Hyphomyzeten färbten sich violett mit rotem Ton wenn lebend, aber violett mit blauem Ton wenn tot. Ruzika nimmt für diese Färbungen sowohl physikalische Faktoren als auch chemische Wirkungen an und meint: „Es ist klar, daß wenn wir die supponierten Gruppen des Eiweißmoleküls kennen würden, wir imstande wären, den chemischen Unterschied zwischen lebendem und totem Protoplasma zu präzisieren."

Wenn nun nach meiner Ansicht zwischen den labilen und stabilen Proteosomen derselbe chemische Unterschied besteht, wie zwischen den Proteinen des lebenden und des toten Protoplasmas, so muß auch das Verhalten der Proteosomen gegen Methylgrün und gegen die Ruzika-Mischung das gleiche sein, wie das zwischen lebenden und toten Protoplasma.

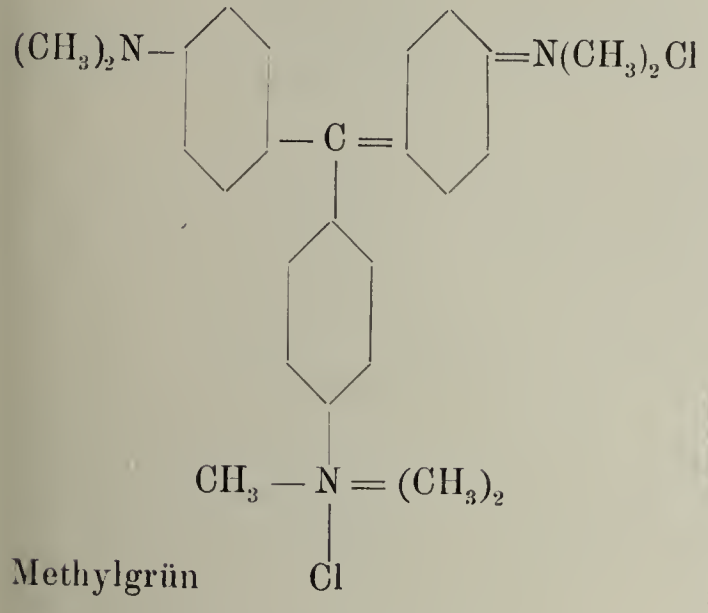
Zu meinen Versuchen nahm ich jene Farbstoffe weit verdünnter als die genannten Autoren, so verdünnt, daß die Lösung nur noch schwach gefärbt erschien. In solchen Lösungen ließ ich die Objekte 1—2 Tage und zwar am Tageslicht; die lebenden Zellen blieben so zum großen Teile am Leben. Es wurde auch etwas Koffein zugesetzt, weil sonst die labilen Proteosomen langsam in Lösung gegangen wären. Es wurde auf diese Weise die Giftwirkung der Farbstoffe vermieden, andererseits auch eine allgemeine diffuse Färbung der ganzen Zelle verhindert, wie sie bei konzentrierteren Farbstofflösungen eintritt.

Zu den Versuchen eignet sich am besten Spirogyra majuscula, weil diese Art oft so viel aktives Eiweiß im Zellsaft speichert, daß bei mehrstündigem Aufenthalt in einer 0,1—0,5%igen Lösung von Koffein sehr große Proteosomen von mehr als dem halben Zelldurchmesser in den Zellen entstehen. Man wartet, bis die zahlreichen anfangs gebildeten kleinen Tröpfchen sich zu wenigen großen verschmolzen haben. Nach einigen Tagen Liegen in der Koffeinlösung fangen einige Zellen an abzusterben und einige Zeit darauf zeigen auch die in diesen Zellen befindlichen Proteosomen Trübung durch Bildung zahlreicher kleiner Vakuolen, ein Prozeß, der häufig bis zur Bildung einer festen Hohlkugel fortschreitet. Legt man nun eine Anzahl solcher Fäden, in welchen ja die lebenden und toten Zellen sehr leicht voneinander zu unterscheiden sind, in eine sehr verdünnte nur schwach gefärbte Lösung von Methylgrün, welcher man etwas Koffein zugesetzt hat, so kann man schon nach 4 Stunden eine Anzahl Zellen beobachten, welche Farbstoff aufgenommen haben, weit intensiver zeigt sich jedoch die Färbung nach 1—2 Tagen.

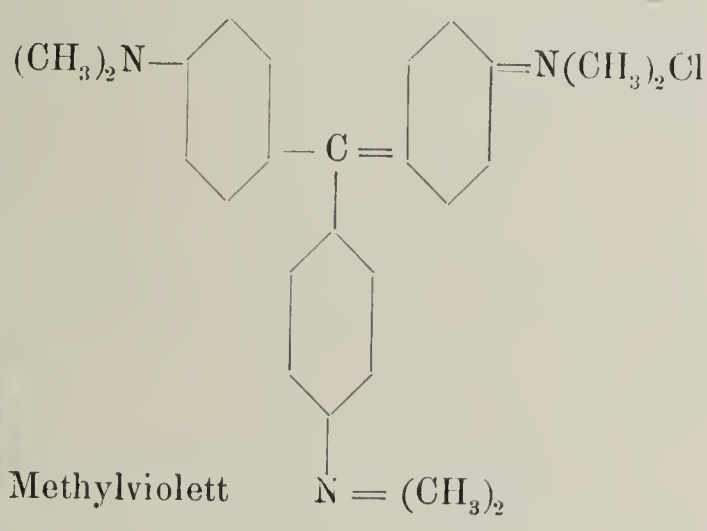
In den noch lebenden Zellen haben sich nun die labilen Proteosomen rosa bis violett gefärbt, in den toten Zellen aber die vakuolisierten stabilen Proteosomen intensiv grün. In einigen wenigen Fällen waren die Proteosomen tief blau gefärbt. Solche blaue Proteosomen kamen vereinzelt auch in Zellen vor, in welchen schon ein bis zwei andere Proteosomen intensiv grün gefärbt waren. Da blau aus violett und grün hervorgeht, dürfte es sich um noch nicht vollendete Gerinnung handeln.

Es ergibt sich also aus dieser Erscheinung, daß eine erhebliche chemische Veränderung beim Koagulieren der Proteosomen vor sich geht. Worin besteht nun die Veränderung des Methylgrüns durch die labilen Proteosomen und durch das lebende Protoplasma zu einem roten bis rotvioletten Farbstoff?

Das Methylgrün wird aus dem Methylviolett durch Addition von Chlormethyl gewonnen; dieses Grün spaltet bei Temperaturen über 120 Grad das Chlormethyl wieder ab unter Rückbildung des ursprünglichen Methylvioletts. Es wirken also die labilen Eiweißstoffe bei gewöhnlicher Temperatur ebenso verändernd auf das Methylgrün wie eine Temperatur von über 120 Grad. Die Formeln der beiden Farbstoffe mögen hier angeführt werden:



Methylgrün



Methylviolett

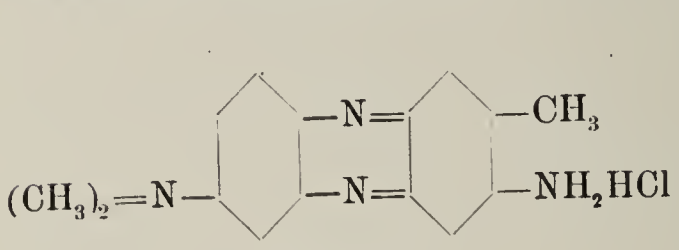
Auf Unterschieden im Grade von Alkaleszenz oder Azidität beruhen in diesem Falle die verschiedenen Färbungen ganz gewiß nicht, wie auch daraus hervorgeht, daß solche Proteosomen, welche im labilen Zustande in eine 0,1%ige Lösung von Ammoniak kamen und unter Ammoniakabsorption erstarrt waren, sich nicht violett, sondern tief grün färbten. Durch die Ammoniakabsorption würde ja ein schwach alkalischer Grad noch verstärkt worden sein[1]) und um eine schwach

1) Nach meiner Ansicht über die Bildung von aktivem Eiweiß aus dem

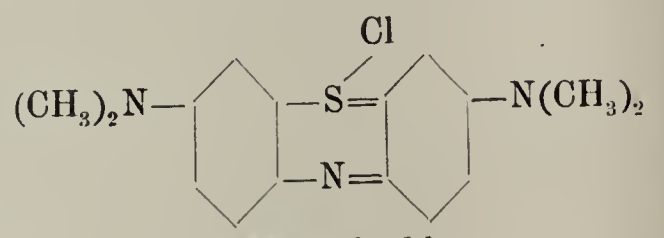
saure Beschaffenheit kann es sich ja bei dem aktiven Eiweiß nicht handeln, sondern höchstens bei dem umgelagerten koagulierten Eiweiß der Proteosomen, dem passiven Eiweiß.

Es wurde noch zur Kontrolle eine Anzahl solcher Fäden mit lebenden und toten Zellen 2 Tage lang in einer hochverdünnten Methylviolett-Lösung belassen. Hierbei stellte sich heraus, daß sowohl Zytoplasma als Proteosomen in lebenden Zellen den Farbstoff aufnahmen. in den abgestorbenen Zellen aber nicht, im Gegensatz zu manchen anderen Farbstoffen. Die stabilen koagulierten Formen der Proteosmen zeigten bei diesem Versuche lediglich die gelbliche Färbung, welche sie gewöhnlich nach ein Paar Tagen durch Oxydation der geringen Gerbstoffbeimengung zeigen. In einzelnen Zellen war das abgestorbene Zytoplasma wie sonst ungefärbt, aber doch die Proteosomen violett. Es ergab sich dann, daß diese Proteosomen noch nicht geronnen waren.

Was nun die Ruzika-Mischung betrifft, so läßt sich zwischen den beiden Farbstoffen derselben kein wesentlicher Unterschied in der Basizität aus der Struktur entnehmen; die Aufnahme des einen oder anderen der Farbstoffe durch Proteosomen hängt möglicherweise teilweise mit einem Unterschied in der Konfiguration jener Atomgruppen zusammen, welche mit dem Unterschied zwischen der labilen und stabilen Form von Eiweiß zusammenhängen. Die Formeln beider Farbstoffe sind wie folgt:



Neutralrot

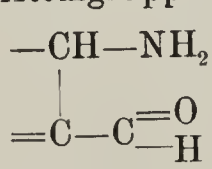


Methylenblau

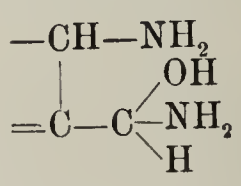
Die lebenden Zellen färben sich, wie erwähnt, in dieser Mischung mit Neutralrot, die toten mit Methylenblau. Der Umschlag von rot in blau geschieht nach Ruzika beim Absterben der Zellen in der Mischung oft sehr schnell. In voller Übereinstimmung mit dieser Er-

---

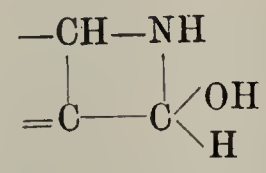
Dialdehyd der Asparaginsäure durch Kondensation unter Reduktionsvorgängen sind jene Atomgruppen folgendermaßen konstituiert:



Labile Gruppe im aktiven Eiweiß



Mit Ammoniak fixierte Gruppe



Stabile, umgelagerte Gruppe im passiven gewöhnlichen Eiweiß

cheinung ist nun das Verhalten der labilen und stabilen Form der Proteo-omen. Setzt man zu einer Koffeinlösung, in welcher Spirogyra-Fäden ich seit mehreren Tagen befunden haben, einige Tropfen der verdünnten Ruzika-Mischung, so daß die Lösung nur schwach gefärbt erscheint, o sind nach einem Tage[1]) alle labilen Proteosomen intensiv rot, die koagulierten Proteosomen aber in den abgestorbenen Zellen tief blau, in instruktives Bild, welches einen überraschenden Anblick gewährt.

Sehr schön demonstriert sich auch der Übergang vom labilen in den stabilen Zustand der Proteosomen. In manchen noch lebenden Zellen nämlich hat ausnahmsweise die Koagulation der Proteosomen schon begonnen, ist aber noch nicht vollendet. In diesem Falle sind die Proteosomen violett (Mischfarbe). Es gibt ferner, wenn auch sehr vereinzelt, Fälle, bei denen in noch lebenden Zellen die Koagulation der Proteosomen schon vollendet ist. In diesen Fällen ist nur ein tiefes Blau zu sehen, ein Beweis, daß das Methylenblau durch das lebende Zytoplasma ebenso leicht eindringt, als das Neutralrot.

Von Wert war es noch, auch die mit 0,1% Ammoniak fixierten Koffeinproteosomen (s. oben) mit der Ruzika-Mischung zu prüfen. Es ergab sich hier, daß sich diese überall mit Neutralrot färbten. Hier also verhielt sich sowohl das labile als auch das Amino-Eiweiß der Proteosomen völlig gleich, während im Methylgrün-Versuch im Gegenteil die mit Ammoniak fixierten Proteosomen, das Amino-Eiweiß, sich wie die koagulierten verhielten. Dieser fundamentale Unterschied ist aber leicht begreiflich: Bei der Ruzika-Mischung handelt es sich nur um spezifische Speicherung, bei Methylgrün-Versuch aber um eine chemische Aktion, wobei das Methylgrün in das Anilinviolett zurückverwandelt wird und diese chemische Aktion kann nicht mehr geleistet werden, wenn die labilen Gruppen im aktiven Eiweiß durch Ammoniakaufnahme verändert sind und ihre Labilität verloren haben; denn damit ist sicher auch die chemische Leistungsfähigkeit verschwunden.

Auch gegen Chinon verhält sich die labile und die stabile Form der Proteosomen verschieden. Die labile Form färbt sich durch Chinon intensiv gelb, die stabile aber braun. Eine braune Färbung liefert Chinon nicht nur mit gewöhnlichen Proteinstoffen, sondern mit verschiedenen anderen Körpern, wie Phenolen und Glukosiden.

---

1) Bei stärkerer Konzentration kann man schon nach einigen Stunden das Resultat erkennen, allein man riskiert dabei das Absterben der meisten Zellen.

Schlußfolgerungen.

1. Die Reaktionen von Mosso und von Ruzika zeigen, daß zwischen der labilen und der stabilen Form der Proteosomen ein ähnlicher chemischer Unterschied besteht wie zwischen lebendem und abgestorbenem Protoplasma.
2. Die Umwandlung von Methylgrün in Methylviolett bei der Reaktion von Mosso ist eine chemische Arbeit, zu welcher die labilen Proteosomen ebenso befähigt sind, wie das lebende Protoplasma.
3. Die mit Ammoniak fixierten Proteosomen sind ebenso unfähig, Methylgrün in Methylviolett umzuwandeln, wie die geronnenen umgelagerten Proteosomen; sie färben sich bei der Reaktion von Mosso ebenso wie die geronnenen. Dagegen färben sich bei der Reaktion von Ruzika die mit Ammoniak fixierten Proteosomen ebenso wie die labilen, sie nehmen das Neutralrot aus der Ruzika-Mischung auf. Dieser Unterschied ist aber leicht erklärlich; denn es liegt bei der Farbstoffaufnahme aus der Ruzika-Mischung keine chemische Leistung vor wie bei der Reaktion von Mosso, sondern nur eine Adsorption, die durch alkalische Medien begünstigt wird.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1917

Band/Volume: 109

Autor(en)/Author(s): Loew Oscar

Artikel/Article: Zur Analogie zwischen lebender Materie und Proteosomen 61-66