

PROTOPLASMATOLOGIA

HANDBUCH DER PROTOPLASMAFORSCHUNG

BEGRÜNDET VON

L. V. HEILBRUNN · F. WEBER
PHILADELPHIA GRAZ

HERAUSGEGEBEN VON

M. ALFERT · H. BAUER · C. V. HARDING · W. SANDRITTER · P. SITTE
BERKELEY TÜBINGEN ROCHESTER FREIBURG I. BR. FREIBURG I. BR.

MITHERAUSGEBER

J. BRACHET-BRUXELLES · H. G. CALLAN-ST. ANDREWS · R. COLLANDER-HELSINKI
K. DAN-TOKYO · E. FAURÉ-FREMIET-PARIS · A. FREY-WYSSLING-ZÜRICH
L. GEITLER-WIEN · K. HÖFLER-WIEN · M. H. JACOBS-PHILADELPHIA
N. KAMIYA-OSAKA · W. MENKE-KÖLN · A. MONROY-PALERMO
A. PISCHINGER-WIEN · J. RUNNSTRÖM-STOCKHOLM

BAND VIII

PHYSIOLOGIE DES PROTOPLASMAS

7

AKTIVER TRANSPORT

b

AKTIVER TRANSPORT (KURZSTRECKENTRANSPORT BEI PFLANZEN)



1969

SPRINGER-VERLAG
WIEN · NEW YORK

**AKTIVER TRANSPORT
(KURZSTRECKENTRANSPORT
BEI PFLANZEN)**

VON

U. LÜTTGE
DARMSTADT

MIT 47 TEXTABBILDUNGEN



1969

SPRINGER-VERLAG
WIEN · NEW YORK

ISBN-13: 978-3-7091-5594-3 e-ISBN-13: 978-3-7091-5593-6
DOI: 10.1007/978-3-7091-5593-6

ALLE RECHTE VORBEHALTEN

KEIN TEIL DIESES BUCHES DARF OHNE SCHRIFTLICHE GENEHMIGUNG
DES SPRINGER-VERLAGES ÜBERSETZT ODER IN IRGEND EINER FORM
VERVIELFÄLTIGT WERDEN

© 1969 BY SPRINGER-VERLAG/WIEN

SOTCOVER REPRINT OF THE HARDCOVER 1ST EDITION 1969

LIBRARY OF CONGRESS CATALOG CARD NUMBER: 55-880

Protoplasmatologia

VIII. Physiologie des Protoplasmas

7. Aktiver Transport

b) Aktiver Transport (Kurzstreckentransport bei Pflanzen)

Aktiver Transport (Kurzstreckentransport bei Pflanzen)

Von

ULRICH LÜTTGE

Botanisches Institut der Technischen Hochschule Darmstadt

Mit 47 Textabbildungen

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung: Die fundamentale Bedeutung des Kurzstreckentransportes für das Leben	2
Allgemeiner Teil	
I. Die Beschaffenheit der Barrieren: die Membranen	4
a) Der Bau der Membranen	4
b) Physikalisch-chemische Untersuchungen an natürlichen und künstlichen Lipidmembranen	14
c) Die Bedeutung des Ca^{++} für die Membranintegrität und den Membrantransport	16
II. Mechanismen des Kurzstreckentransportes	19
a) Grundbegriffe und Definitionen	19
1. Der „apparent free space“	20
2. Der physikalische Transport durch Membranen	21
3. Die katalysierte Diffusion	25
4. Der aktive Transport	27
b) Die Energiequellen des metabolischen Transportes	31
1. Die Theorie von der Koppelung des Ionentransportes mit der Elektronenübertragung durch die Atmungskette	31
2. Die Abhängigkeit der Stoffaufnahme vom allgemeinen Stoffwechsel der Zelle und der Bereitstellung von energiereichem Phosphat	35
3. Die Abhängigkeit der Stoffaufnahme vom Licht	39
c) Die Natur der Träger	47
1. Proteine als Träger	48
2. Lipide und Lipoproteine als Träger	53
3. Membranstrukturen und Transportphänomene	57

Manuskript abgeschlossen im Juli 1967.

Spezieller Teil		Seite
III. Vorgänge des Kurzstreckentransportes bei Pflanzenzellen		60
a) Die Kinetik der Ionenaufnahme.....		60
b) Die TORII-LATIES-Hypothese		66
c) Die Einzelfluxe an Plasmalemma und Tonoplast		73
d) Der Stofftransport innerhalb der Zelle		79
1. Die Ionenaufnahme durch Pflanzenmitochondrien		81
2. Die Ionenaufnahme durch Chloroplasten.....		85
3. Der Stoffaustausch anderer Kompartimente der Zelle		89
a) Zellkerne		89
b) Der Transport in „Bläschen“, „Tubuli“ oder „Vesikeln“		89
IV. Die Stoffverschiebung innerhalb von Geweben: der symplasmatische Transport		91
a) Der Nachweis des symplastischen Transportes bei <i>Vallisneria</i> -Blättern		91
b) Der Mechanismus des symplastischen Transportes		93
V. Der Stofftransport in Organen		95
a) Der Ionenstrom durch die Wurzel.....		95
1. Der Ort der metabolischen Kontrolle des Ionenstromes in das Xylem		95
2. Der Zusammenhang zwischen der Ionenaufnahme in das Xylem und der Transpiration		102
3. Weitere Voraussetzungen der CRAFTS-BROYER-Hypothese: Die Eigenschaften des Plasmalemmas der lebenden Zellen des Zentralzylinders und die Bedeutung der Rinde		104
4. Die Ionenaufnahme und der Ionenstrom durch verschiedene Wurzelzonen		106
5. Die Vacuolen als Ionenreservoir		107
b) Der Stofftransport in Blättern		109
c) Der Stofftransport durch Drüsen: Ein Vergleich des metabolischen Transportes von Salzen und Assimilaten		114
Schlußbemerkung: Der Kurzstreckentransport im pflanzlichen Organismus: Ein System und seine Rolle für das Leben größerer Funktionseinheiten		122
Dankadresse		123
Literatur		123

Einleitung

Die fundamentale Bedeutung des Kurzstreckentransportes für das Leben

Nach einer von OPARIN (1963 a, 1963 b) vertretenen Hypothese war der erste Schritt bei der Entstehung der Lebewesen aus der sogenannten Ursuppe eine Abgrenzung kleiner Teile dieser Ursuppe durch Oberflächenfilme oder Membranen. Diese sogenannten koacervaten Tröpfchen oder analogen Systeme durften aber durch ihre Membranen nicht hermetisch abgeschlossen sein; die Membranen mußten vielmehr einen kontrollierten Stoffaustausch zwischen den koacervaten Tröpfchen und ihrer Umgebung gestatten, denn alle Organismen sind offene Sy-

steme (v. BERTALANFFY 1953), „durch welche hindurch ein ständiger Fluß von Energie und Stoffen stattfindet, wobei diese in deren Innerem Umwandlungen erfahren“ (WESTPHAL 1953).

Ohne daß wir auf die Gültigkeit der OPARINSchen Hypothese näher einzugehen brauchen, führt diese uns doch vor Augen, daß als ein wesentliches Charakteristikum selbst der primitivsten hypothetisch gedachten Organismen deren Begrenzung nach außen angesehen werden muß, die neben ihrer Funktion als Barriere die Aufgabe hat, einen kontrollierten Stoffaustausch mit der Umgebung zu gewährleisten. NETTER (1959) nennt dies die „stoffliche Emanzipation von der Umgebung“, die seiner Ansicht nach schon sehr früh in der phylogenetischen Entwicklung der Lebewesen erfolgt sein muß. Die Kontrolle über den Stoffdurchtritt durch die abschließende Membran, die erforderlich ist, damit die Membran ihre Doppelaufgabe als trennende und verbindende Struktur erfüllen kann, wird bei allen rezenten Organismen durch deren eigene Aktivität, das heißt direkt oder indirekt durch den Stoffwechsel, ausgeübt.

In einer rezenten Zelle finden wir nun nicht nur eine nach außen abschließende Plasmamembran, sondern innerhalb des so umgrenzten Raumes zahlreiche weitere, auch ihrerseits durch Membranen abgegliederte Bereiche. In Pflanzenzellen zunächst die besonders auffallende vom Tonoplasten umgebene Vacuole, Organelle, wie die Plastiden, Mitochondrien, den Zellkern, die alle von Membranen umschlossen sind, und die von Membranen gebildeten Vesikel der Dictyosomen und des endoplasmatischen Reticulums. Manche dieser Kompartimente sind wiederum durch Membranen weiter gegliedert, z. B. die Chloroplasten in Thylakoide. Dies zeigt, daß die Vorgänge des Kurzstreckentransportes nicht auf die äußere Membran oder das Plasmalemma beschränkt sein können. Das Problem wird dadurch noch komplexer, daß wir es nicht nur mit einer Vielzahl von Bezirken zu tun haben, in die hinein und aus denen heraus Stofftransporte erfolgen müssen, sondern auch mit einer großen Anzahl von Stoffen oder Stoffgruppen, die oftmals unabhängig voneinander transportiert werden.

Verschiedene Mechanismen des Kurzstreckentransportes unterscheiden wir nicht allein beim Transport unterschiedlicher Stoffgruppen, sondern vor allem dadurch, wie eng und auf welche Weise der betreffende Transportprozess mit dem Stoffwechsel verknüpft ist. Wenn wir von der Betrachtung der Transportvorgänge an und innerhalb einer einzelnen Zelle zur Stoffverschiebung in Organen oder ganzen Pflanzen übergehen, finden wir neben dem Kurzstreckentransport den Ferntransport. Dieser ist wahrscheinlich in allen Fällen eine Druckströmung, als solche nicht direkt vom Stoffwechsel abhängig und deshalb hier nicht von unmittelbarem Interesse. Allerdings sind diese passiven Ströme von Wasser und darin gelöster Stoffe stets an einer oder mehreren Stellen im pflanzlichen Organismus mit einem an einer Membran lokalisierten Kurzstreckentransport verbunden. Ihre Zusammensetzung wird auf diese Weise schließlich metabolisch kontrolliert. Membrantransporte werden auch in dieser Hinsicht zu entscheidenden Kontrollmechanismen der Stoffversorgung des Organismus.

Ehe wir uns diesen einzelnen Vorgängen und ihrer Verknüpfung mit dem Stoffwechsel widmen, erscheint es nützlich, ein Bild von der Beschaffenheit der Membranen zu geben, an denen sich die Prozesse des Kurzstreckentransportes abspielen.

Allgemeiner Teil

I. Die Beschaffenheit der Barrieren: die Membranen**a) Der Bau der Membranen**

Lange bevor man die Membranen mit Hilfe des Elektronenmikroskopes sichtbar machen konnte, gelangte man durch indirekte Methoden zu konkreten Vorstellungen über ihren Aufbau. *Spreitungsversuche* haben gezeigt, wie sich Filme aus langkettigen amphipolaren Molekülen (z. B. Fettsäuren, Lipide), die also einen hydrophilen Pol und einen hydrophoben Rest besitzen, verhalten. LANGMUIR (1917 a, 1917 b, 1933, cf. NETTER 1959) untersuchte den Platzbedarf solcher Moleküle an einer Wasser-Luft-Grenzfläche mit Hilfe der „Schubspannung“, die durch die Tendenz zur Verschiebung der Teilchen in der Grenzfläche hervorgerufen wird. Er fand unter anderem, daß Fettsäuremoleküle bei vollständiger Kondensation unabhängig von der Kettenlänge stets annähernd die gleiche Fläche von etwa $2,2 \text{ nm}^2$ pro Molekül einnehmen und schloß daraus, daß die Moleküle mit ihrer Längsachse senkrecht zur Wasser-Luft-Grenzfläche stehen müssen.

GORTER und GRENDEL (1925) zeigten auf ähnliche Weise, daß die aus Erythrocyten isolierten Lipide eine Fläche einnehmen, die gerade doppelt so groß ist wie die Oberfläche der roten Blutkörperchen. Aus diesen Befunden entstand die Vorstellung, daß die Zelloberfläche aus einer bimolekularen Lage von Lipidmolekülen bestehen muß.

Nun liegt die Oberflächenspannung der äußeren Membran von Erythrocyten und von verschiedenen Eiern, z. B. des Seeigels *Arbacia*, von Mollusken oder vom Salamander zwischen 0,2 und 0,8 dyn/cm (COLE 1932, COLE und MICHAELIS 1932, HARVEY 1933, HARVEY und FRANKHAUSER 1933, NORRIS 1939, Zusammenfassung und weitere Literatur HARVEY 1954), und die Spannung an der Grenzfläche von Öltröpfchen im Protoplasma beträgt etwa 0,6 dyn/cm (HARVEY und SHAPIRO 1934, cf. auch KOPAC 1940), während die Spannung zwischen Lipiden und Wasser viel größer ist; zwischen Öl aus Makreleneiern und Wasser wurden 7—10 dyn/cm gemessen. Aus diesen Gründen nahmen DANIELLI und HARVEY (1935) an, daß sich die Lipide bei der Bildung der Membran mit oberflächenaktiven Substanzen zusammenlagern, und zwar vor allem mit Globulin-ähnlichen Proteinen.

Aus diesen Vorstellungen entwickelten DANIELLI und DAVSON (1935) ein *Modell*, nach dem die biologischen Membranen aus einer doppelten Lage von Lipidmolekülen bestehen, deren Kohlenstoffketten parallel angeordnet und mit dem lipophilen Pol nach innen gerichtet sind, und deren nach außen orientierte hydrophile Enden von einem Proteinfilm bedeckt werden (Abb. 1 a). Das Protein ist in diesem Modell durch Wasserstoffbrücken und Salzbindungen mit den hydrophile Gruppen der Lipidmoleküle verbunden. Daß Lipide in der Zelle mit einem Proteinfilm umgeben sind, kann gezeigt werden, wenn in ein Ei von *Arbacia* ein Tropfen Öl injiziert und das Öl anschließend vorsichtig zurückgesaugt wird. Bei einer bestimmten kritischen Größe des Öltröpfchens wird seine Oberfläche faltig und runzelig, eine Erscheinung, die auf einer Denaturierung des Proteinfilmes durch die Oberflächenkräfte beruht (DEVAUX-Effekt: KOPAC 1940, 1943, 1950, cf. HARVEY 1954; über die Spreitung von Proteinen: GORTER und GRENDEL 1926, cf. auch NETTER 1959).

Die elektronenmikroskopischen Bilder, die man später von Membranquerschnitten gewinnen konnte, schienen dieses Modell zunächst in hohem Maße zu bestätigen. Aufnahmen von Membranen, die mit KMnO_4 oder OsO_4 fixiert wurden, zeigen drei Lagen, zwei dunkle, stark kontrastierte und eine helle Zwischenschicht. Die elektronenmikroskopischen Präparate geben zwar kein unmittelbares Bild

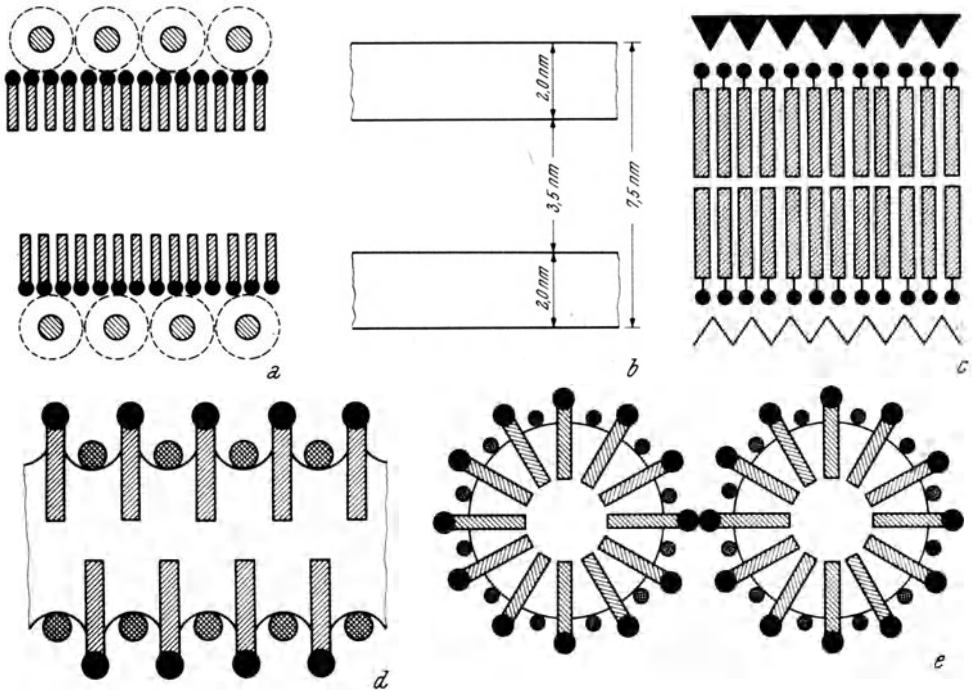


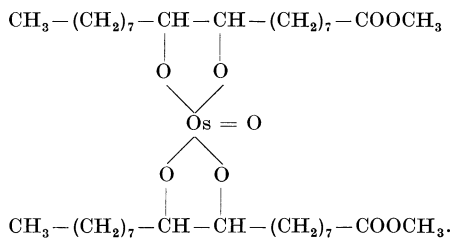
Abb. 1. Verschiedene Modelle biologischer Membranen. *a* Membranmodell von DANIELLI und DAVSON (1935). Der Lipidfilm aus einer doppelten Lage von Molekülen ist auf beiden Seiten von einem Proteinfilm bedeckt. Das Innere der Membran wird durch eine hydrophobe Lipidregion (schrägschraffierte Blöcke) gebildet, die hydrophilen Gruppen der Lipide (schwarze Kreise) sind nach der Oberfläche zu orientiert. *b* Elektronenmikroskopisches Bild einer Membran nach Fixierung mit KMnO_4 oder OsO_4 mit durchschnittlichen Abmessungen. *c* Modell der Elementarmembran aus J. D. ROBERTSON (1964) entsprechend dem Modell von DANIELLI und DAVSON (siehe *a*). Durch verschiedene Proteinfilme auf beiden Seiten ist die Membran asymmetrisch. *d* Membranmodell nach den Vorstellungen von BENSON und Mitarb. gezeichnet und von Prof. A. A. BENSON freundlicherweise autorisiert. Das Innere der Membran wird durch hydrophobes Protein gebildet, durch das die Lipide mit ihren hydrophoben Enden (schrägschraffierte Blöcke) gebunden werden. Die polaren Gruppen der Lipide (schwarze Kreise) und Proteine (kreuzschraffierte Kreise) liegen an der Oberfläche. *e* Membranmodell nach den Vorstellungen von SJÖSTRAND und ELFVIN (1964) gezeichnet. Das Innere der globulären Membranmizelle wird durch hydrophobes Protein gebildet, durch das die Lipide mit ihren hydrophoben Enden (schrägschraffierte Blöcke) gebunden werden. Die polaren Gruppen der Lipide (schwarze Kreise) und Proteine (kreuzschraffierte Kreise) liegen an der Oberfläche der globulären Membranuntereinheiten, zwischen denen auf diese Weise hydrophile „Poren“ die Membran queren.

vom Aufbau der Membranen, sie sind als reproduzierbare Fixierungsartefakte oder „Äquivalenzstrukturen“ anzusehen. Unter der Annahme von STOECKENIUS (1959, 1960), daß die Moleküle des Fixierungsmittels dort eingelagert werden, wo die polaren Enden der Lipide mit den Proteinmolekülen verbunden sind, lassen sich das elektronenmikroskopische Bild (Abb. 1 *b*) und das Schema von DANIELLI und DAVSON sehr gut zur Deckung bringen. Da die zahlreichen Membranen innerhalb der Zelle alle im Elektronenmikroskop auf gleiche Weise kontrastieren, wenn auch die Membrandicken in bestimmten Grenzen schwanken (LEDBETTER 1962, SJÖSTRAND, 1963 a, 1963 c, GRUN 1963, YAMAMOTO 1963) und von der Art der

Fixierung abhängen (SJÖSTRAND 1960), entwickelte J. D. ROBERTSON (cf. J. D. ROBERTSON 1964) die *Theorie der „unit membrane“* (= „Elementarmembran“ in der Nomenklatur von SITTE 1961), nach der alle Membranen dem Plasmalemma analog aufgebaut sind und ontogenetisch oder phylogenetisch als direkte oder indirekte Abkömmlinge desselben betrachtet werden können (Abb. 1 c).

Dieses Membranmodell, das für lange Jahre als gültig angesehen und vielfach zur Erklärung der Phänomene des Membrantransportes herangezogen wurde (s. S. 21 u. 57 ff.), ist durch widersprechende physiologische Befunde, durch Modellversuche mit künstlichen Membranen und im Anschluß daran auch durch abweichende elektronenmikroskopische Beobachtungen in jüngster Zeit stark erschüttert worden.

Es ist dabei nicht nur entscheidend, welche Bedeutung man den oben erwähnten Unterschieden in den Dimensionen der einzelnen Membranen beimessen will, sondern auch von Wichtigkeit, zu wissen, welche chemisch definierten Orte in den Membranen durch die Fixierungsmittel kontrastiert werden. KORN (1966) widerspricht der Ansicht von STOECKENIUS (1960 s. o.) über den Ort der OsO_4 -Einlagerung in die Membran. Er nimmt an, daß das Osmium in fixierten Membranen an die Kohlenwasserstoffketten der Lipide kovalent gebunden ist, da OsO_4 mit olefinischen Gruppen von Lipiden reagiert und stabile Osmiumsäureester der Glycole bildet, z. B. bei Reaktion mit Methyloleat:



STOECKENIUS kennt diesen Einwand (STOECKENIUS 1959, 1960, STOECKENIUS et al. 1960). Er hat dementsprechend zunächst zwei Modelle diskutiert, von denen das eine ausschließlich auf einer OsO_4 -Anlagerung an die Doppelbindungen der Lipide beruht, während das andere allein auf der OsO_4 -Reaktion mit den hydrophilen Gruppen fußt (STOECKENIUS 1959, STOECKENIUS et al. 1960). Der sorgfältige Vergleich der Dicke der dunklen und hellen Linien, die bei der Gültigkeit des einen oder des anderen Modells bei der elektronenmikroskopischen Betrachtung OsO_4 -fixierter Myelinfiguren zu sehen sein müßten, zeigt, daß beide Modelle identische Bilder ergeben würden. Eine Entscheidung ließ sich durch die Elektronenmikroskopie zunächst nicht durchführen. Andere Versuche führten STOECKENIUS dann zu der Annahme, daß die im Elektronenmikroskop sichtbaren dunklen Linien tatsächlich auf der OsO_4 -Anlagerung an den hydrophilen Enden der Lipide beruhen. Künstliche Membranen von Uranyl-Linolenat ergeben mit und ohne Fixierung durch OsO_4 das gleiche Bild und stimmen auch mit Aufnahmen von OsO_4 -fixiertem K-Linolenat überein. Das heißt, daß die OsO_4 -Kontrastierung nur dort erfolgen kann, wo auch die, an die COO-Gruppen gebundenen Uranylionen eine Kontrastierung ergeben. Die Doppelbindungen liegen in den Linolenatfilmen in der Mitte zwischen jeder Doppellage von Carboxylgruppen. Dort tritt nach OsO_4 -

Fixierung kein Kontrast auf (STOECKENIUS 1960), was nicht bedeutet, daß OsO_4 nicht mit den Doppelbindungen reagiert. Es muß sogar angenommen werden, daß beide Reaktionsmöglichkeiten, die mit den hydrophilen Gruppen und die mit den Doppelbindungen, verwirklicht sind. Die Reaktion mit den hydrophilen Gruppen allein soll aber zu einer sichtbaren Elektronenabsorption führen und das in den hellen Zonen vorhandene OsO_4 sich nicht nachweisen lassen (STOECKENIUS et al. 1960).

Viele Erkenntnisse über den Membranaufbau wurden durch die *Untersuchung stark spezialisierter Membranen* gewonnen, denen vor allem wegen ihrer biochemischen Funktion verstärktes Interesse galt. Besondere Bedeutung kommt zunächst den Befunden von FLEISCHER et al. (1962) zu, die mit wäßrigem Aceton 80% der Phospholipide aus Mitochondrien extrahiert haben, wodurch die biochemische Funktion der Mitochondrien (Reaktionen der Elektronenübertragung) gestört, aber ihre Struktur nicht sichtbar verändert wird. Elektronenmikroskopische Aufnahmen der mit Aceton extrahierten Mitochondrien zeigten zwar leichte Anzeichen der Beschädigung, die strukturelle Integrität der Organelle war jedoch im Großen und Ganzen erhalten geblieben. Auch hinsichtlich der Größe waren sie mit unbehandelten Mitochondrien vergleichbar. Dieser Befund steht in unmittelbarem Gegensatz zu der, dem DANIELLI-DAVSON-Modell zugrunde liegenden Auffassung, nach der die Lipide die wichtigsten kohäsiven Kräfte hervorrufen, die die Membranen und damit auch die Mitochondrien zusammenhalten. Es zeigt sich, daß die Phospholipide des Mitochondrions nicht zur Aufrechterhaltung seiner Großstruktur nötig sind. Die Entfernung der Phospholipide ist reversibel. Die Aceton-extrahierten Mitochondrien können die Fähigkeit zur Elektronenübertragung zurückerlangen, wenn die entzogenen Lipide wieder zugegeben werden. Eine spätere, eingehendere Arbeit (FLEISCHER et al. 1967) differenziert das Bild etwas. Danach geht die äußere Mitochondrienmembran bei der Extraktion verloren, sie muß also anders gebaut sein als die innere Mitochondrienmembran. Die Autoren selbst glauben, daß ihre Befunde weder die Ungültigkeit des DANIELLI-Modells beweisen, noch irgendeinem anderen Modell starken Vorzug geben. Modifikationen des DANIELLI-Modells seien jedoch erforderlich.

Die Ergebnisse von Untersuchungen an Chloroplasten scheinen mit den bei Mitochondrien erhaltenen Resultaten nicht ohne weiteres übereinzustimmen. MENKE (1962) wertet den Befund, daß bei der Extraktion der Lipide aus Chloroplasten der Durchmesser dieser Organelle gleichbleibt, ihre Dicke aber um die Hälfte abnimmt (MENKE und MENKE 1956, KREUTZ und MENKE 1960), als Hinweis dafür, daß Lipide und Proteine in getrennten Filmen aneinanderliegen.

Andererseits stellte sich heraus, daß sowohl bei Mitochondrien als auch bei Chloroplasten ein hoher Prozentsatz des Membranproteins ein bei physiologischen pH-Werten hydrophobes Polymeres darstellt (GREEN 1962, CRIDDLE et al. 1962, FLEISCHER et al. 1962, BIGGINS und PARK 1965). Bei Mitochondrien sind dies etwa 50—70% des Membranproteins.

Die Bedeutung des Proteins beim strukturellen Aufbau der Membranen wird durch das DANIELLI-DAVSON-Modell, das ganz auf der Anordnung der Lipide in Oberflächenfilmen fußt, vernachlässigt (GREEN und HECHTER 1965).

BENSON (1964) beschreibt zwei verschiedene Möglichkeiten der gegenseitigen Bindung von Proteinen und Lipiden:

1. *die ionische Bindung*, die BENSON auch den Myelin-Typ nennt, da diese Form der Bindung, die auch dem Modell der Elementarmembran von J. D. ROBERTSON zugrunde liegt, ursprünglich ausschließlich für die Myelinstrukturen gilt (vgl. auch SITTE 1966); und

2. *die hydrophobe Bindung*, wie sie im Lipoprotein der Mitochondrien und nach BENSON auch in den Lamellen der Chloroplasten vorliegen muß, wo die Fettsäurereste in den hydrophoben Regionen des Proteins „gelöst“ sein sollen (vgl. auch GREEN und FLEISCHER 1963, SHIBUYA et al. 1965).

Auf diese Weise lassen sich nach FLEISCHER et al. (1961, 1963) zwei verschiedene Membrantypen denken. Ein von BENSON und Mitarb. (BENSON 1966) entwickeltes Membranmodell fußt auf der zweiten Form der Bindung, der hydrophoben Bindung, an der weder Kovalenz- noch Wasserstoffbrückenbindungen beteiligt sind. Hydrophobes Protein bildet danach das Innere der Membran. Die hydrophilen Gruppen des Proteins liegen an der Oberfläche der Proteinmoleküle und damit an der Membranoberfläche. Die Lipide sind mit ihren hydrophoben Enden in das Protein eingebettet, sie wirken auf diese Weise wie ein Detergens, das das Protein in Lösung hält. Die anionischen Gruppen der Lipide befinden sich außen. Bei Fixierung mit OsO₄ müßte eine solchermaßen strukturierte Membran im Elektronenmikroskop das Bild der Abb. 1 b ergeben, also zwei schwarze, kontrastierte Linien, getrennt durch eine nicht gefärbte Mittelzone. Die Vorstellungen von BENSON und Mitarb. lassen sich grobschematisch durch die Zeichnung der Abb. 1 d wiedergeben. Besondere Bedeutung kommt dem engen Kontakt der Lipid- und Proteinmoleküle, der Lipoproteidnatur der Membran, zu. Den Kohlenstoffketten der Fettsäureester sollen bestimmte hydrophobe Aminosäuresequenzen des Membranproteins entsprechen, an denen die Bindung in spezifischer Weise erfolgt. Das Protein bestimmt dadurch die Orte, wo die hydrophobe Bindung mit den Lipiden am stärksten ist. Die genetische Kontrolle der Membranstruktur wäre dabei über die Beeinflussung der Aminosäuresequenz des Proteins möglich, die zu der spezifischen, hydrophoben Assoziierung mit Lipidmolekülen führt. Daraus ergibt sich auch der flexible Charakter einer derartig gebauten Membran, die Möglichkeit zur stoffwechselabhängigen Veränderung der Membranstruktur, zur Adaptation der Struktur und der strukturbedingten Funktion an verschiedene physiologische Gegebenheiten.

Der enge Kontakt zwischen Lipiden und Proteinen in Membranuntereinheiten wird durch Versuche der Isolierung von Lipoproteinkomplexen aus biologischen Membranen bewiesen. Mit Hilfe von Detergentien (z. B. Natrium-laurylsulfat) gelingt es, Membranstrukturen zu lösen, wobei man Lipoproteideinheiten erhält, die als solche zusammenbleiben und in der analytischen Ultrazentrifuge als homogene Fraktion sedimentieren (GENT et al. 1964, RAZIN et al. 1965). Beim Entfernen des Detergens und dem gleichzeitigen Vorhandensein von di- oder polyvalenten Kationen lagern sich die isolierten Untereinheiten wieder zu Membranstrukturen zusammen (RAZIN et al. 1965).

Wesentliche Stützen für ein den Vorstellungen von BENSON (1966) entsprechendes Membranmodell lieferten von WALLACH und ZAHLER (1966) und von LENARD und SINGER (1966) mit Hilfe des Ultraviolett-dichroismus und der optischen Rotationsdispersion durchgeführte Untersuchungen der Sekundärstruktur der Membranproteine. Es gelang diesen Autoren bei Experimenten mit Membranen

aus Ehrlich-Ascites-Carcinom, von roten Blutkörperchen des Menschen und von *B. subtilis* zu zeigen, daß ein Teil des am Aufbau dieser Membranen beteiligten Proteins in der α -Helix-Konfiguration vorliegt, nämlich etwa $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ des gesamten Membranproteins, während der Rest des Proteins sich im Zustand der „random-coil-Form“ befindet. Dieser Befund ist für die Diskussion der Membranschemata insofern von Bedeutung, als nach LENARD und SINGER die α -Helix-Konfiguration unter den Bedingungen des DANIELLI-DAVSON-ROBERTSON-Modells nicht stabil ist. Nach diesem Modell müsse das Strukturprotein an den äußeren Membranoberflächen vollkommen im entfalteten Zustand vorliegen, eine große Anzahl nicht-polarer Aminosäuren wäre mit der wäßrigen Phase in Berührung, eine Bedingung, die nach den genannten Autoren thermodynamisch ungünstig ist. In 2-Chloro-äthanol als Lösungsmittel befindet sich ein viel höherer Prozentsatz der Membranproteine in der α -Helix-Form als in wäßrigem Puffer. Darüberhinaus wird daran erinnert, daß hydrophobe Bindungen bei der spezifischen Konfiguration globulärer Proteine in wäßriger Lösung (z. B. beim Myo- und Hämoglobin) eine entscheidende Rolle spielen.

Aus diesen Gründen soll die gefundene Konfiguration des nativen Membranproteins als ein Hinweis dafür gewertet werden, daß hydrophobe Bindungen zwischen dem Protein und den Lipiden in den Membranen eine sehr viel größere Bedeutung haben, als dies bei der Anordnung nach dem DANIELLI-DAVSON-Modell der Fall sein kann. LENARD und SINGER schlagen deshalb ein Modell vor, das sich in verschiedener Hinsicht stark vom DANIELLI-DAVSON-Modell unterscheidet und nach der Meinung dieser Autoren mit den gegenwärtigen Erkenntnissen über die Struktur der Protein-Makromoleküle besser übereinstimmt. Dieses von LENARD und SINGER entworfene Modell entspricht in vielen Einzelheiten der von BENSON angenommenen Struktur der Membranen. Die polaren Enden der Lipidmoleküle sollen zusammen mit den ionischen Seitenketten des Strukturproteins an der äußeren Oberfläche der Membran liegen und durch van der Waals-Kräfte in Kontakt mit der wäßrigen Phase treten. Die hauptsächlich aus nicht-polaren Sequenzen bestehenden Teile des Strukturproteins sollen gemeinsam mit den lipophilen Resten der Phospholipide und den relativ unpolaren Lipiden, wie etwa dem Cholesterol, das Innere der Membran bilden. Vor allem das in der α -Helix-Form vorliegende Protein soll sich im Membraninnern befinden, wo die α -Helix-Konfiguration durch hydrophobe Kräfte stabilisiert werden kann.

Verbesserte elektronenmikroskopische Bilder von Membranen wurden mit neuen Techniken, vor allem mit der Negativkontrastierung mit Phosphowolframat, erhalten. Mit diesem Kontrastierungsmittel behandelte isolierte Mitochondrien erlangen ihre volle Enzymaktivität nach Auswaschen des Reagens wieder zurück, was nach OsO_4 -Fixierung nicht möglich ist. Es ist anzunehmen, daß deshalb durch das Verfahren der Negativfärbung auch die Struktur besser erhalten bleibt (GREEN et al. 1964).

Verschiedene Arbeitsgruppen (SJÖSTRAND 1963 a, 1963 b, 1963 d, FERNÁNDEZ-MORÁN 1963, SJÖSTRAND und ELFVIN 1964, FERNÁNDEZ-MORÁN et al. 1964, BLASIE et al. 1965, HOHL und HEPTON 1965) haben auf diese Weise und mit herkömmlichen Fixierungstechniken das *Vorkommen globulärer Untereinheiten in den Membranen* gezeigt. (Weitere Literaturhinweise s. SITTE 1966.) Ein nach den Angaben von SJÖSTRAND und ELFVIN (1964) gezeichnetes Membranmodell würde etwa dem Bild

der Abb. 1 e entsprechen. Die Lipidmoleküle sind mit ihren hydrophoben Enden in globuläre Proteine mit einem hydrophoben Zentrum und einer hydrophilen Oberfläche eingebettet. Dieses Schema scheint auch Möglichkeiten für die Erklärung verschiedener physiologischer Vorgänge an Membranen zu bieten. Das Schwellen und Schrumpfen der Membranen (vgl. LEHNINGER 1964) kann durch Vergrößerung und Verkleinerung der globulären Einheiten beschrieben werden.

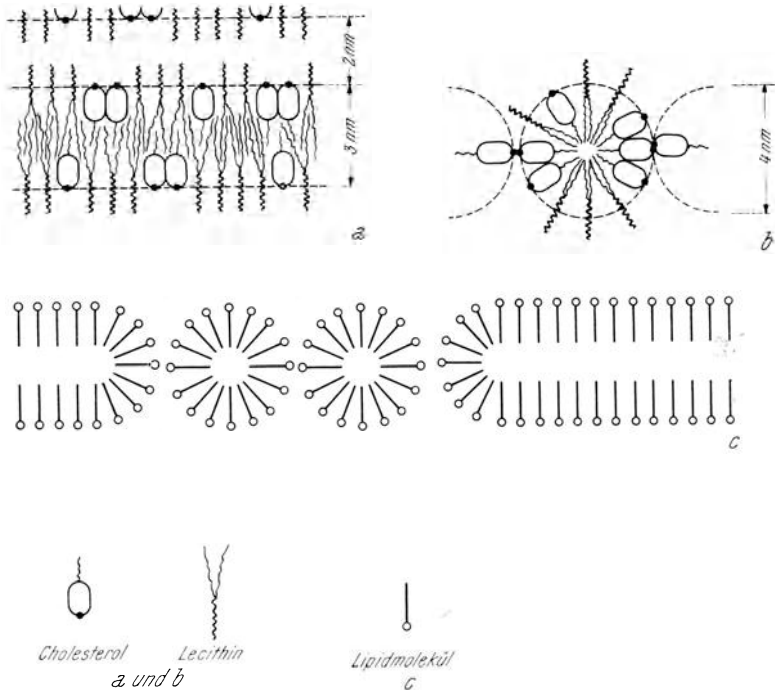


Abb. 2. Molekularschemata künstlicher Lipidfilme. *a* Lamellärer und *b* globulärer Membranaufbau aus LUCY und GLAUERT (1964), *c* Wechsel von globulär und lamellär gebauten Bereichen in einer Membran.

Außerdem erfüllt dieses Modell das in verschiedenen Membrantransporttheorien postulierte Vorhandensein hydrophiler Poren, die hier zwischen den globulären Micellen zu suchen wären (s. S. 22 f.).

Untersuchungen an Modellmembranen aus künstlichen Lipidsuspensionen (z. B. Lecithin, Cholesterol), denen Spuren von hämolytisch wirkenden, stark oberflächenaktiven Stoffen zugesetzt wurden (z. B. Saponin), geben weiteren Aufschluß über die verschiedenen, energetisch möglichen Anordnungen von Lipidmolekülen an polaren Phasengrenzen (LUCY und GLAUERT 1964, BANGHAM und HORNE 1964, STOECKENIUS 1962). Abb. 2 *a* und 2 *b* zeigen die von LUCY und GLAUERT (1964) für einen lamellaren und einen globulären Membranaufbau entworfenen Molekularschemata. LUZZATI und HUSSON (1962) haben die Struktur aus menschlichem Gehirn extrahierter Lipide (52% Cephalin, 35% Lecithin, 13% Phosphoinositide) in Wasser röntgenologisch untersucht. In Abhängigkeit von der Temperatur und vom Verhältnis Lipidgewicht:Gewicht des Lipid-Wassergemisches (= Lipidkonzentration) fanden sie eine lamellare Anordnung der

Lipidmoleküle (Abb. 3 *a*) oder eine hexagonale Anordnung der Lipide zu Zylindern (Abb. 3 *b*). Das Innere eines jeden dieser Zylinder wird von dünnen Wasserkanälen gebildet, an deren Oberfläche sich die hydrophilen Gruppen der Lipidmoleküle befinden, während die lipophilen Kohlenstoffketten die Räume zwischen den Zylindern ausfüllen. Es ist einleuchtend, daß eine solche Membran durch die Wasserkanäle bedingte Permeabilitätseigenschaften haben muß. Beide Membranzustände können nach LUZZATI und HUSSON bei Änderung eines Parameters (Konzentration, Temperatur, elektrisches Potential) ineinander übergehen, wo-

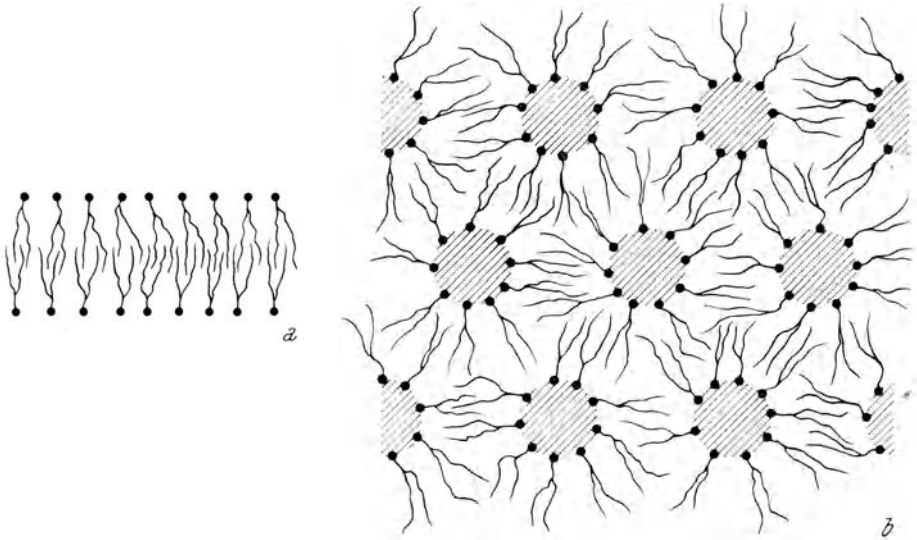


Abb. 3. *a* Lamellärer Membranaufbau und *b* hexagonale Anordnung von aus Lipiden gebildeten Zylindern mit hydrophilen Kanälen (schraffierte Regionen) aus LUZZATI und HUSSON (1962).

durch physiologische Funktionen, wie etwa die Permeabilität beeinflußt und auf diese Weise auch vom Stoffwechsel unter Kontrolle genommen werden können. Dem bimolekularen Film als „geschlossener Configuration“ steht dabei eine hexagonale Anordnung als „offene Configuration“ gegenüber. Man kann sich vorstellen, daß innerhalb einer Membran die Struktur des bimolekularen Films mit der globulären Struktur abwechselt, so daß Poren enthaltende Regionen neben völlig aus Lipiden gebildeten Regionen zu finden sind (Abb. 2 *c*).

Diese verschiedenen Überlegungen über den Aufbau der biologischen Membranen zeigen, wie unbefriedigend das alte Modell von DANIELLI und DAVSON aufgrund neuerer Ergebnisse geworden ist. Trotzdem ist es gegenwärtig offenbar nicht möglich, an seine Stelle ein anderes Modell zu setzen, das alle experimentellen Daten erklären würde.

Dies zeigt sich besonders beim Vergleich der Schemata von *Membranen*, denen besondere biochemische Funktionen zukommen. Abb. 4 *a* gibt den Aufbau der Mitochondrienmembran nach LEHNINGER (1964) wieder. Die Membran ist hier nach dem Modell von DANIELLI und DAVSON gezeichnet. Das Strukturprotein wird durch weiße Kreise angegeben. Die Atmungseinheiten, die 25% oder mehr des gesamten Membranproteins ausmachen und die bei der Atmung erforderlichen

Enzyme enthalten, sind in die Membran eingelagert und werden als schwarze Kreise vom Strukturprotein abgehoben. Die Anordnung der Atmungseinheiten in der Membran ist asymmetrisch. Durch das Prinzip der spezifischen Orientierung und der definierten geometrischen Anordnung der Atmungseinheiten und der einzelnen Enzyme innerhalb dieser Einheiten kommt eine vektorielle Enzymwirkung zustande. Auf diese Weise wird nicht nur ermöglicht, daß bestimmte

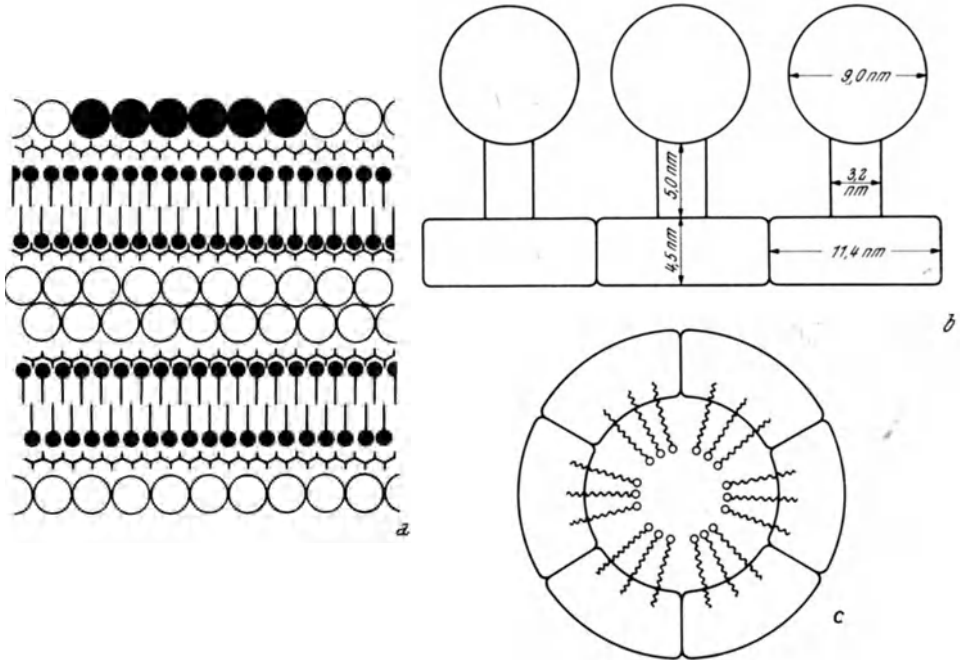


Abb. 4. *a* Mitochondrienmembran aus LEHNINGER (1964). Die Lipiddoppelfilme (—● = Lipidmolekül) sind von Protein bedeckt: Weiße Kreise = Strukturprotein, schwarze Kreise = spezifisches Protein, das die Atmungseinheiten bildet. *b* Mitochondrienmembran aus GREEN et al. (1964). Elementarpartikel, die aus Kopfstück, Stiel und Grundstück bestehen. *c* Funktioneller Komplex der Elektronenübertragungskette der Cristae aus GREEN et al. (1964), Lipide im Zentrum.

Reaktionen an diesen Strukturen ablaufen, die in Lösung, etwa im Reagenzglas, nicht möglich wären, entsprechende Anordnungen können vielmehr auch bei Transportvorgängen eine Rolle spielen (s. S. 52 u. 84).

Die gleiche Membran stellen sich GREEN et al. (1964) anders vor. Sie ziehen die oben erwähnten Arbeiten von FERNÁNDEZ-MORÁN und Mitarb. (s. auch FERNÁNDEZ-MORÁN 1963) zu ihrer Hypothese heran und schildern die innere Mitochondrienmembran und die Cristae-Membranen als aus „elementary particles“ (EP) aufgebaut, wie es in Abb. 4 *b* dargestellt ist. Die Elementarpartikel bestehen aus einem Kopfstück, einem Stiel und einem Grundstück. Das EP kann auch in rein sphärischer Form gefunden werden, und es ist ungewiß, ob es sich um zwei verschiedene Zustände oder zwei verschiedene Fixierungsartefakte handelt. Die Wände der Cristae sollen von polymeren Anordnungen von Elementarpartikeln gebildet werden. Der funktionelle Komplex der Elektronenübertragungskette wird nach diesen Autoren von einer Proteinhülle gebildet, in deren Zentrum die

Lipide in Form einer uni- oder bimolekularen Micelle vorliegen. Die funktionellen Gruppen des Proteins sind nach innen orientiert. Im Inneren dieser Anordnung finden sich hydrophile Kanäle (Abb. 4 c).

Abb. 5 a zeigt zum Vergleich eine andere Membran, der ganz bestimmte biochemische Funktionen zugeschrieben werden müssen: das aus röntgenologischen Untersuchungen durch MENKE (1964) entwickelte Modell eines Chloroplasten-Thylakoids, in dem die einzelnen Lipidmoleküle durch maßgerechte Umrisse von Kalottenmodellen wiedergegeben sind. Im Inneren der Membran befindet sich eine hydrophile Phase, die durch die hydrophilen Gruppen der Lipide gebildet

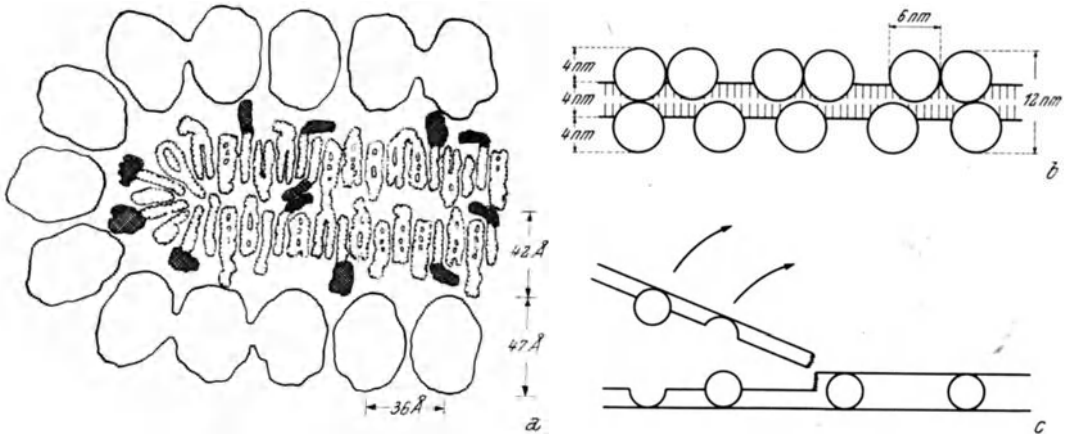


Abb. 5. a Thylakoidmembran (aus MENKE 1964). Die Lipide, nach den Umrissen von Kalottenmodellen gezeichnet, bilden einen doppelten Film, der außen von Protein umgeben wird. Porphyringruppierungen des Chlorophylls schraffiert. b Thylakoidmembran aus MÜHLETHALER (1966 b): globuläre Proteinpartikel in der Lipidmembran. c Thylakoidmembran nach BRANTON aufgrund der von der Ansicht MÜHLETHALERS abweichenden Auffassung über die Präparationsresultate beim Gefrierätzen gezeichnet. Die Pfeile deuten das Spalten der Membran beim Gefrierätzen an. (Die Abbildung wurde von Dr. D. BRANTON dankenswerterweise zur Verfügung gestellt.)

wird (MENKE 1964, KREUTZ 1966). Die Porphyrinreste des Chlorophylls liegen in zwei verschiedenen Zonen. Die hydrophoben Gruppen der Lipide sind gegen eine doppelschichtige Proteinlage gerichtet, die sich außen an die Lipidschichten anlagert (KREUTZ 1966).

Ein von MÜHLETHALER et al. (1965, cf. auch MÜHLETHALER 1966 a, 1966 b) aufgrund von elektronenmikroskopischen Untersuchungen mit der Gefrierätztechnik entworfenes Modell der Thylakoidmembran fußt insofern auf dem DANIELLI-DAVSON-Schema, als das Zentrum der Membran hier durch einen 4,0 nm dicken, doppelten Lipidfilm gebildet werden soll (Abb. 5 b). Hinsichtlich der Anordnung des Proteins weicht es von diesem und von der Elementarmembran von J. D. ROBERTSON stark ab. MÜHLETHALER und Mitarbeiter fanden nach dem Gefrierätzen das Protein in Form von globulären Partikeln mit einem Durchmesser von 6,0 nm, die etwa zu einem Drittel (2,0 nm) in den Lipiddoppelfilm der Membran eindringen. Die Gesamtdicke der Membran ergibt sich dadurch als 12,0 nm. Die auf beiden Seiten in der Membran liegenden Proteinglobuli können durch die Membran miteinander Kontakt haben; nach ihrer Entfernung erscheint die Membran porös. Dieser Kontakt der Proteinmoleküle durch die Membran hindurch wäre für den Stoffdurchtritt von großer Bedeutung (s. S. 58 f.). Die

bei chemischer Fixierung (OsO_4 , KMnO_4) erhaltenen Bilder kommen nach MÜHLETHALER et al. nicht durch Schrumpfen des Proteins, sondern durch artefizielle Ausbreitung des Proteins aus den Globuli in Form eines dünnen Films an der Membranoberfläche zustande. Die Interpretation von MÜHLETHALER et al. wird allerdings nicht allgemein anerkannt. BRANTON (1966) glaubt nicht, daß man bei den, nach Gefrierätzung erhaltenen elektronenmikroskopischen Bildern Aufsichten auf die Membranoberfläche erhält. Er nimmt vielmehr an, daß bei der Präparation die Membran gespalten wird und man nur innere Flächen sieht (Abb. 5 c). Die globulären Einheiten lägen demnach ganz in der Membran eingebettet.

Die in Abb. 1—5 aus dem umfangreichen Schrifttum über biologische Membranen (zusammenfassende Darstellungen: DAVSON und DANIELLI ed. 1952, FINEAN 1961, BELL und GRANT ed. 1963, MENG ed. 1964, BRADY und TRAMS 1964, DANIELLI et al. ed. 1964, LOCKE ed. 1964, PAULY 1964, SENO und COWDRY ed. 1964, KAVANAU 1965, MADDY 1966) ausgewählten Modelle zeigen nicht nur, daß sich ein allgemein gültiges Membranmodell gegenwärtig nicht aufstellen läßt, sondern auch, daß die Membranen Gebilde von hoher Mannigfaltigkeit sein können, die zustandekommt durch Variationen in der molekularen Anordnung und räumlichen Verteilung ihrer einzelnen Bestandteile und durch Verschiedenheiten im chemischen Aufbau der Proteine und Lipide. Durch diese Vielseitigkeit wird erst möglich, daß sich alle wichtigen Reaktionen des Lebens an oder in Membranen abspielen (R. N. ROBERTSON 1962). In gleicher Weise dürfen Unterschiede in den Permeabilitätseigenschaften verschiedener Membranen nicht verwundern.

b) Physikalisch-chemische Untersuchungen an natürlichen und künstlichen Lipidmembranen

Untersuchungen von PLOWE (1931 a, 1931 b), die mit dem Mikromanipulator an Zellen der Zwiebschuppenepidermis durchgeführt wurden, geben ein lebendiges Bild von den physikalischen Eigenschaften des Plasmalemmas, des Tonoplasten und der Kernmembran. Das Vorhandensein physiologischer Barrieren an der Grenze zwischen Vacuole und Cytoplasma und an der äußeren Oberfläche der Zellen wurde zunächst dadurch nachgewiesen, daß Farbstoffe, die nicht in die Zellen aufgenommen werden, sich nach Injektion in das Plasma und in die Vacuole innerhalb dieser Kompartimente sofort ausbreiteten, aber nicht durch deren Grenzflächen transportiert wurden.

Durch Ausziehen mit der Mikromanipulatorennadel konnte die Elastizität des Plasmalemmas direkt demonstriert werden. Das Cytoplasma selbst ist längst nicht so dehnbar, es rundet sich zu kleinen, vom Plasmalemma umhüllten Tröpfchen ab (Abb. 6 a). Beim Durchstechen einer ganzen Zelle wird die Mikromanipulatorennadel von Plasma und Plasmalemma umgeben. Bei diesem Versuch kann auch die Vacuole angestochen werden. Die Öffnung vergrößert sich dann rasch, der Vacuoleninhalt fließt aus, und das Protoplasma bildet einen zum Teil vom ehemaligen Plasmalemma, zum Teil vom Tonoplasten umgebenen kleinen Ball, der den Kern enthält, aber keine Vacuole besitzt. Das Protoplasma erscheint normal, die Plasmaströmung dauert an. Der Kern kann im Cytoplasma mit der Nadel herumgestoßen werden, er erweist sich als außerordentlich elastisch.

Es gelingt mit dieser Technik auch, Vacuolen zu isolieren. Nach der Zerstörung des Plasmalemmas quillt das Plasma weg und kann mit der Nadel vollkommen

entfernt werden, so daß die Vacuole als transparenter, vom Tonoplasten umgebener, mit Zellsaft gefüllter Sack zurückbleibt (Abb. 6 *b*). Die Membran behält dabei ihre semipermeablen Eigenschaften. Die isolierten Vacuolen werden in verdünnter Lösung größer, in konzentrierter kleiner.

HARVEY (1954) beschreibt an anderer Stelle in diesem Handbuch die Membranen als „semi-solid“, als Flüssigkeit mit hoher Plastizität, die geringeren Einwirkungen widerstehen kann und erst durch stärkere Kräfte, z. B. durch Zentrifugieren, beeinflußt wird. Auch bei künstlichen Lipidfilmen wurde der flüssige Charakter der Membranen nachgewiesen (MUELLER et al. 1964, THOMPSON 1964). Filmische Darstellungen von lebenden Pflanzenzellen (GIRBARDT; HONGLADAROM

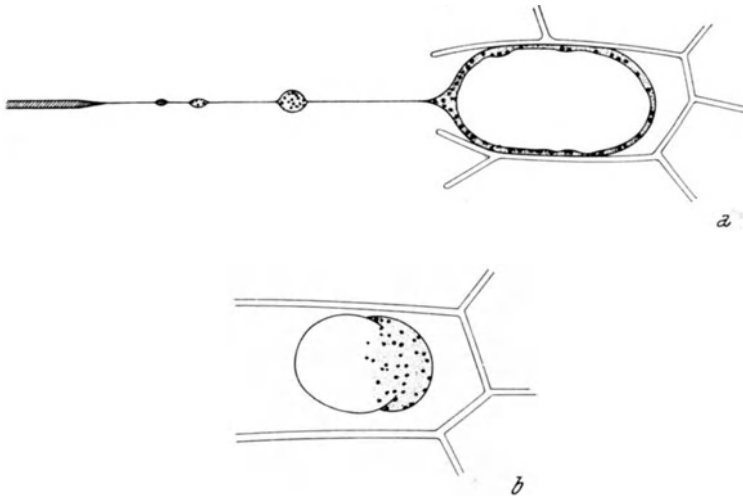


Abb. 6. *a* Demonstration der Elastizität des Plasmalemmas von Zellen der Zwiebelschuppenepidermis durch Ausziehen mit einer Mikromanipulatornadel nach PLOWE (1931). *b* Isolierung einer Vacuole.

et al.) zeigen nicht nur die hohe Elastizität, sondern auch die große Dynamik der Membranen.

In Tab. 1 sind einige physikalisch-chemische Größen künstlicher Lipidfilme und lebender Membranen zusammengestellt. Über die Dicke der Membranen und ihre Oberflächenspannung wurde oben schon gesprochen. Die künstlichen Lipidfilme und die lebenden Membranen entsprechen einander weitgehend, was die mechanische Beschaffenheit, den flüssigen Charakter, die Dicke und den elektrischen Widerstand betrifft. BANGHAM et al. (1965 a) fanden, daß die Diffusion univalenter Kationen und Anionen durch künstliche Lecithinfilme und biologische Membranen sehr ähnlich ist. Unterschiede, die sich vor allem in der Oberflächenspannung äußern, sind durch das Fehlen des Proteins bei den künstlichen Lipidfilmen bedingt. MUELLER et al. (1964) konnten durch Anlagerung von Proteinen an künstliche Lipidmembranen deren Oberflächenspannung stark herabsetzen. Durch viele der untersuchten Proteine wurde der Membranwiderstand nicht erniedrigt, was nicht bedeuten muß, daß sie nicht an die Lipidfilme adsorbiert werden und mit den Lipiden eine Bindung eingehen. Die Autoren haben jedoch in rohen Präparaten von Arylsulfatase und Leberhämoglobinase einen Faktor gefunden,

der den Membranwiderstand stark herabsetzt. Diese Substanz ging beim Reinigen der Enzympräparate verloren.

Der physikalisch-chemische Zustand der Membranen ist für ihre Permeabilitätseigenschaften von außerordentlicher Bedeutung. Oberflächenaktive Substanzen, hämolytische Stoffe, die den Membranaufbau beeinflussen („membranaktive“ Substanzen nach LUCY 1964), haben starken Einfluß auf den Kurzstreckentransport an den Membranen (WILLMER 1961, LYONS und PRATT 1964, PARR und NORMAN 1964, SIEGEL und HALPREN 1964, BANGHAM et al. 1965 b). *In vivo* kann die Zelle selbst offenbar die physikalischen Eigenschaften der Mem-

Tab. 1. *Physikalisch-chemische Größen künstlicher Lipidfilme und biologischer Membranen.*

	Künstliche Lipidfilme	Autor	Biologische Membranen	Autor
Dicke	6,1 nm	THOMPSON 1964	7,5 nm	J. D. ROBERTSON 1964
	6,0—9,0 nm	HUANG und THOMPSON 1965 MUELLER et al. 1964		
Oberflächen- spannung	7—10 dyn/cm	s. S. 4	0,2—0,8 dyn/cm	s. S. 4
Elektrischer Widerstand	0,5—1,0 × 10 ⁸ Ω/cm ²	MUELLER et al. 1964	10 ³ —10 ⁵ Ω/cm ²	COLE 1940 (zit. nach THOMPSON 1964)
	0,2—4 × 10 ⁶ Ω/cm ²	THOMPSON 1964	Plasmalemma: 5—50 × 10 ³ Ω/cm ²	WALKER 1960
			Tonoplast: 3 × 10 ³ Ω/cm ²	WALKER 1960

bran regulieren und an veränderte Bedingungen anpassen. LYONS et al. (1964) fanden, daß die Mitochondrienmembranen kälteresistenter Pflanzen einen erhöhten Prozentsatz ungesättigter Fettsäuren enthalten und dadurch flexibler sind.

c) Die Bedeutung des Ca⁺⁺ für die Membranintegrität und den Membrantransport

Obwohl in ihrem Mechanismus noch weitgehend ungeklärt, soll in diesem Zusammenhang noch die Bedeutung des Ca-Ions für den Membrantransport, die mit dem Einfluß des Ca⁺⁺ auf die Membranintegrität in Zusammenhang gebracht wird, diskutiert werden.

DANIELLI und DAVSON (1935) haben darauf hingewiesen, daß der Hydratationsgrad und damit auch die Permeabilität der Membranen wesentlich davon abhängen, ob einwertige Ionen oder Ca⁺⁺ als Gegenion der in den Membranen enthaltenen Phosphatide vorliegen. Außer durch direkte Einwirkung auf die Membran kann das Ca⁺⁺ den Ionentransport auch durch seine Teilnahme an metabolischen Vorgängen beeinflussen (HANDLEY et al. 1965, KLEINZELLER 1961). Hier soll zunächst nur der erste Vorgang betrachtet werden.

Eine stimulierende Wirkung des Ca^{++} und verwandter Kationen auf die Ionenaufnahme durch Wurzeln wurde zuerst von VIETS (1944) beschrieben. Dieser Effekt konnte inzwischen in zahlreichen weiteren Untersuchungen generell oder doch in modifizierter Weise bestätigt werden. Ca^{++} fördert die Aufnahme zahlreicher Anionen und Kationen durch pflanzliche (SWANBACK 1939, LEGGETT und EPSTEIN 1956, TANADA 1956, KAHN und HANSON 1957, JACOBSON et al. 1960, EPSTEIN 1961, ELGABALY 1962, MARCHWORDT 1963, WELTE und MARCHWORDT 1963, FOOTE und HANSON 1964, HOOYMANS 1964, PITMAN 1964, COOIL et al. 1965, LEGGETT et al. 1965) und tierische Gewebe (z. B. GARDOS 1961). Das Natrium nimmt eine Ausnahmestellung ein, seine Aufnahme wird durch das Ca^{++} gehemmt (EPSTEIN 1961). Über eine Hemmung der Mg-Aufnahme durch Ca^{++} berichten MOORE et al. (1961). Ca-Mangel wurde in diesen Untersuchungen meist durch Anzucht des Pflanzenmaterials in Ca^{++} -freien Lösungen oder durch Behandlung mit Chelatbildnern wie Oxalat oder Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) hervorgerufen.

Die Ca-Mangelercheinungen lassen sich durch Zugabe von Ca^{++} selbst oder durch andere divalente Kationen wie Mg^{++} , Ba^{++} , Sr^{++} (TANADA 1955, FOOTE und HANSON 1964, HERMANN 1964, OERTLI 1964 b, ELZAM und EPSTEIN 1965, LEGGETT et al. 1965, VAN STEVENINCK 1965), Zn^{++} (EPSTEIN 1961), Mn^{++} (EPSTEIN 1961, VAN STEVENINCK 1965), durch Al^{+++} (Hermann 1964) und in geringerem Maße auch durch Na^+ , K^+ und Li^+ (HOOYMANS 1964) aufheben.

Der Einfluß des Ca-Mangels auf die Membranbarrieren äußert sich nicht nur in Permeabilitätsveränderungen, sondern auch in einer Wirkung auf die elektrischen Eigenschaften der Membranen (KLEINZELLER 1961, FINDLAY 1962, 1964, FINDLAY und HOPE 1964 a, 1964 b, FRANKENHAEUSER und HODGKIN 1957, SHANES 1958, HIGINBOTHAM et al. 1964, KISHIMOTO et al. 1965, SPANSWICK et al. 1967). Beides hängt eng zusammen. Ist z. B. die Anionenaufnahme durch eine negativ geladene Membran beschränkt, so kann diese Grenzfläche für Anionen in höherem Maße permeabel werden, wenn zweiwertige statt einwertiger Kationen als Gegenionen vorhanden sind (PITMAN 1964).

TOBIAS et al. (1962) fanden, daß der elektrische Widerstand einer Cephalin-Cholesterol-Modellmembran durch CaCl_2 gesteigert und durch KCl oder NaCl herabgesetzt wird. Die Untersuchung der pH-Abhängigkeit dieses Effektes zeigte, daß er durch die Kombination der Kationen mit den sauren Gruppen der Phospholipide hervorgerufen wird. KAVANAU (1965) versucht, dadurch die Ca-Wirkung auf die Membranen zu erklären. Durch Verbindung des Ca^{++} mit Phosphat- und Carboxylgruppen der Lipide entstehen Brücken zwischen den einzelnen Lipidmolekülen, was eine Verringerung des Membrandurchmessers zur Folge hat. Durch diese Schrumpfung verbreitern sich die Lipidmicelle, wodurch in den Membranen liegende Poren enger werden. Eine passive Permeabilität der Poren muß dadurch erniedrigt, das Membranpotential, der elektrische Widerstand und die Fähigkeit zur Ionenakkumulation müssen erhöht werden.

HERMANN (1964) demonstrierte die schädigende Wirkung des Ca-Entzuges auf die Membranintegrität in Versuchen, bei denen die Plasmolyse zur Vitalprüfung herangezogen wurde.

Die Beschädigung der Membran durch Ca-Mangel kann so drastisch sein, daß sie sich in elektronenmikroskopischen Untersuchungen nachweisen läßt. MARINOS