

nur ganz gering und bewegt sich bei Kontrolltieren und gelähmten Tieren in derselben Größenordnung, womit ausgeschlossen werden kann, daß die Steigerung der AP-Aktivität durch einen Zerfall labiler Phosphorsäure-Verbindungen vorgetäuscht wird.

Die vorliegenden Untersuchungen dürfen als Beweis dafür angesehen werden, daß beim Muskelzerfall durch Cocksackie-Virus A₂ bei der Säuglingsmaus im Cytoplasma eine AP freigesetzt wird, welche in löslicher Form vorliegt und Na- β -glycerophosphat sowie Phenylphosphat spaltet.

Methodik

Es wurden Würfe von Albinomäusen (keine reinen Stämme), 2—5 Tage alt, benutzt.

Der verwendete Virusstamm stammt ursprünglich aus dem Laboratorium von Dalldorf und hat in der Kinderklinik Freiburg weitere Passagen (Gebrauch von Kadaversuspensionen) durchgemacht. (Die früheren Untersuchungen¹ wurden ebenfalls mit Freiburger Passagematerial angestellt.) Das Tiergewebe wurde mit einem Mörser verarbeitet. Präparation der Suspensionen und Inokulation der Tiere wie früher¹, bzw. wurde jetzt teilweise eine Suspension von 1:50 hergestellt. Nach Auftreten der Lähmung wurden die Tiere durch Dekapitation getötet und auf Filtrierpapier entblutet. Die Extremitäten-Muskulatur wurde ohne Beschädigung des Knochens abpräpariert.

Bei der histochemischen Bearbeitung wurden sofort kleine Stücke des Gewebes in kaltem Aceton (4°) 24 Stdn. lang fixiert. Anschließend wurden die Stücke 2-mal 30 Min. mit Toluol behandelt, 3-mal im gewechselten Paraffin (56°)

je 20 Min. inkubiert und dann in Paraffin eingebettet. Die 8 μ dicken Schnitte wurden lediglich durch Adhäsion auf dem Objektträger befestigt, anschließende Behandlung mit Xylol, Alkoholreihe, Wasser wie üblich. Evtl. präformiertes Calciumsalz wurde durch Behandeln der Schnitte mit Citratpuffer, p_H 5,0, entfernt. Anschließend Inkubation der Schnitte für 1—24 Stdn. mit und ohne Substrat. Als Substrat diente 2-proz. Na- β -glycerophosphat im entsprechenden Puffer von p_H 9,4. Dann Behandlung nach der Vorschrift von Gomori³.

Für die chemischen Untersuchungen wurde die Muskulatur in dest. Wasser, physiologischer Kochsalzlösung bzw. in 0,88-m. Rohrzuckerlösung (zur Darstellung der „Kern“- bzw. „Cytoplasma“-Fraktion) in einem Waring-Blender unter Eiskühlung homogenisiert. Der anorganische P wurde in 1,0 ccm Homogenat nach Zusatz von 0,5 ccm 20-proz. Trichloressigsäure im klaren Zentrifugat nach einer Molybdänblau-Methode (Reduktionsmittel SnCl₂) bestimmt.

Zur Bestimmung der Aktivität der freien AP wurden 0,5 ccm Homogenat bzw. Filtrat mit 1,0 ccm einer 4,0 mMol enthaltenden Lösung von Phenylphosphorsäure (Bayer) bzw. einer 10,0 mMol starken Lösung von Na- β -glycerophosphat in 0,1-m. Sodabicarbonatpuffer, p_H 9,2, unter Toluolzusatz bei 37° über verschieden lange Zeitabstände inkubiert. Nach Abstoppen der Reaktion durch Zusatz von 0,5 ccm 20-proz. Trichloressigsäure wurde wie oben im klaren Zentrifugat der Phosphor bestimmt. Die Veraschung zur Feststellung des Gesamtposphors wurde mit H₂SO₄ und Perchlorsäure unter HNO₃-Zusatz durchgeführt. Stickstoffbestimmung nach einer Mikro-Kjeldahl-Methode.

Die Untersuchungen wurden durch Mittel ermöglicht, die uns von der Deutschen Forschungsgemeinschaft in dankenswerter Weise überlassen wurden.

Zur Zytologie und Enzymatik der Bakterien

Von ALOYSIUS KRIEG, Göttingen *

(Z. Naturforsch. 9b, 342—348 [1954]; eingegangen am 4. Februar 1954)

Im Anschluß an fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen in vivo wird eine neue Vorstellung zur Zytologie der Bakterienzelle entwickelt: Das stäbchenförmige Bakterium besitzt ein spiralförmiges, dem Chromonemafaden von Chromosomen höherer Kernsysteme vergleichbares euchromatisches Kernäquivalent. Abwandlungen von diesem Schema in den verschiedenen Ordnungen der Bakterien und bei der Sporenbildung werden besprochen. Phasenoptisch nachweisbare Paranucleoide werden als heterochromatischer Anteil des Kernsystems gedeutet. Auch Chondriosomen-Äquivalente sind in Bakterien nachweisbar, und zwar entweder als Reduktionsorte oder als Speicher von Atmungsgiften. Die Ausbildung von metachromatischen Granula wird als eine Metaphosphatspeicherung in den Chondriosomen-Äquivalenten angesehen. Die Atmungsfermente sind in den Chondriosomen strukturgebunden. Die Gärungsfermente hingegen befinden sich frei im Plasma, aus dem sie funktionstüchtig isolierbar sind. Adaptationsvorgänge bei diesen werden diskutiert.

Das Zellkern-Problem der Bakterien ist umstritten. Pietschmann und Rippel (1932)¹

* Adresse des Verfassers: Göttingen, Nikolausbergerweg 51.

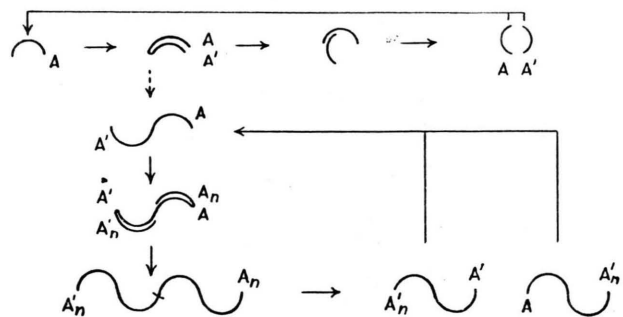
untersuchten mit Hilfe der Feulgenschen Nucleal-Reaktion zur Darstellung des desoxyribonucleinsäure-

¹ K. Pietschmann u. A. Rippel, Arch. Mikrobiol. 3, 422 [1932].

(DNS)-haltigen Chromatins verschiedene Bakterien und gelangten dabei zu dem gleichen Ergebnis, welches man gelegentlich der Untersuchung zytologischer Verhältnisse bei Bakterien mit basischen Anilinfarben (sog. Kernfarbstoffen) erhalten hatte: Die nucleal-positive Substanz scheint diffus in der Bakterienzelle verteilt zu sein. Stille (1937)² sah die diffuse Nuclealfärbung als Artefakt infolge der HCl-Hydrolyse bei 60°C an und hydrolysierte daher bei 40°C. Er konnte auf diese Weise an definierten Stellen nucleal-positive Körnchen feststellen. Unabhängig von ihm gelang Piekarski (1937)^{3, 4} ebenfalls der Nachweis von nucleal-positiven sphärischen Kernäquivalenten, die er als „Nucleoide“ bezeichnete. Die schlechten Erfahrungen des Versuches, den Bakterienkern vom Plasma mit Hilfe der üblichen Kernfarbstoffe zu differenzieren, erklärte Piekarski durch den auch UV-mikroskopisch geführten Nachweis großer Mengen von Ribonucleinsäure (RNS) im Bakterienplasma. In diesem Zusammenhang und im Hinblick auf eigene Ergebnisse (Krieg 1953)⁵ sei die Frage aufgeworfen, ob nicht auch die Nucleoide von Piekarski, Robinow⁶ und anderen Untersuchern infolge der angewandten Hydrolyse noch ziemlich wirklichkeitsfremde Darstellungen der natürlichen Verhältnisse sind. Die Problematik insbesondere der Säurehydrolyse konnte Robinow (1953)⁷ an Sporen von *Bacillus megatherium* demonstrieren. Die von de Lamater (1951)^{8, 9} geschilderten Kernstrukturen schließlich, die nach Entwässerung in gefrorenem Alkohol oder Aceton (bei -50°C) darstellbar werden und die keine Nucleoide, sondern schleifenförmige Gebilde darstellen und die de Lamater als „bakterielle Mitosestadien“ bezeichnet, sind, wie Bisset¹⁰ ausführte, ebenfalls nicht frei von Artefakten.

Der Verfasser (Krieg^{5, 11-14}) konnte nach Fluorochromierung mit Acridinorange, welches eine besondere Affinität zu Nucleinsäuren, insbesondere zu kompakten hochmolekularen DNS-Proteiden hat, unter Verwendung des Fluoreszenzmikroskops in vivo spiralförmige Kernäquivalente in stäbchenförmigen Bakterien (*Enterobacterium*, *Lactobacterium*, *Bacil-*

lus sowie Jugendstadien von *Corynebacterium* und *Mycobacterium*) nachweisen (vgl. Abb. 1*). Durch Anwendung eines Quetschdruckes (ähnlich wie bei der Heitzschen Nuclealquetschmethode) konnten die zur Beobachtung geeigneten optischen Bedingungen am Objekt geschaffen werden. Die spiralförmigen Kernäquivalente sind vergleichbar dem spiralisierten Chromonemafaden, wie er etwa in Metaphasen-Chromosomen meiotischer Pollenmutterzellen von *Tradescantia* z. B. mit Hilfe von Rhodanid-Carmin-essigsäure darstellbar ist. Der Durchmesser des Spiralfadens beträgt im Mittel etwa 0,15 μ und kann mit dem Lichtmikroskop gerade noch dargestellt werden. Im Gegensatz zu den üblichen zytologischen Untersuchungsmethoden konnten bei den eigenen Versuchen strukturell geschädigte oder bereits nekrotisch veränderte Zellen auf Grund der Struggerschen Unterscheidungs-Fluorochromierung von der Beurteilung einwandfrei ausgeschlossen werden. Der Nachweis von kommaförmigen Kernäquivalenten bei Coccen (vgl. Abb. 4) läßt die stäbchenförmigen Bakterien als polyploide, die Coccen als haploide Individuen erscheinen. Hieraus kann indirekt auf eine Relation zwischen Karyoplasma- und Zytoplasma-Massen auch bei Bakterien geschlossen werden. Die hypothetische Ableitung des polyploiden Kernäquivalentes der Bakterien von den Verhältnissen bei Coccen soll das Schema 1 verdeutlichen:



Schema 1. Reproduktion.

Die auf Grund der Matrizentheorie sich identisch reproduzierende einfache (haploide) Garnitur A trennt

² B. Stille, Arch. Mikrobiol. 8, 125 [1937].

³ G. Piekarski, Arch. Mikrobiol. 8, 428 [1937].

⁴ G. Piekarski, Naturwissenschaften 37, 201 [1950].

⁵ A. Krieg, Naturwissenschaften 40, 414 [1953].

⁶ C. F. Robinow, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B 30, 299 [1942].

⁷ C. F. Robinow, J. Bacteriol. 66, 300 [1953].

⁸ E. D. de Lamater, Science [Washington] 113, 477 [1951].

⁹ E. D. de Lamater, Mikroskopie 7, 358 [1952].

¹⁰ K. A. Bisset, Science [Washington] 116, 154 [1952].

¹¹ A. Krieg, Z. Hyg. Infektionskrankh. 138, 357 [1953].

¹² A. Krieg, Z. Hyg. Infektionskrankh. 138, 530 [1953].

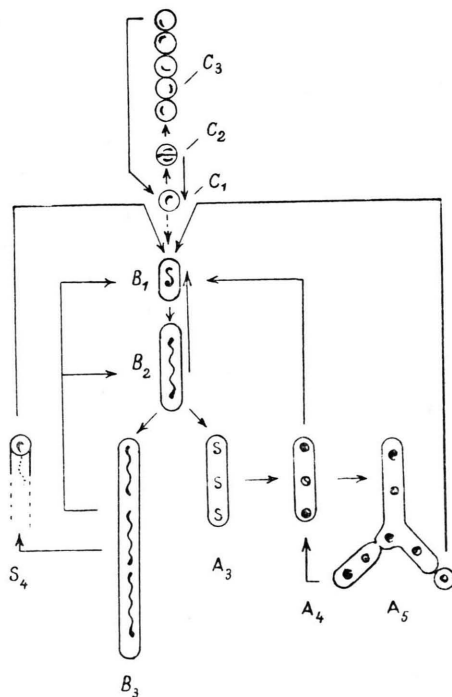
¹³ A. Krieg, Z. Hyg. Infektionskrankh. 139, 61 [1954].

¹⁴ A. Krieg, Z. Hyg. Infektionskrankh. 139, 64 [1954].

* Abb. 1-6 s. Tafel S. 344 a.

sich bei den Coccen als Vorbereitung auf die Teilung von der Tochtergarnitur A' . Bei den Bakterien hingegen bleiben während der vegetativen Phase eine Reihe von Garnituren A_n, A', A, A_n miteinander in Zusammenhang und bilden nach dem angegebenen Schema eine Spirale. Die Teilung der Bakterien erfolgt nach Fragmentation der polyploiden Spirale, und nicht wie beim Chromonema durch vollständige Verdoppelung und anschließende Längsteilung der Spirale. Hieraus ist abzuleiten, daß die einzelnen Spiralwindungen des bakteriellen Kernäquivalents identisch sind und damit das Bakterium ein echtes polyploides Wesen darstellt. Die Notwendigkeit einer Längsteilung ergibt sich zwangsläufig dann, wenn die einzelnen Spiralwindungen voneinander differenziert sind und diese Verschiedenheit vererbt wird, wie in den Chromonemafäden höherer Zellsysteme. Übergänge hierzu scheinen bei Cyanophyceen vorzukommen. Es bestehen keine prinzipiellen Schwierigkeiten, die Chromonemaspirale von dem bakteriellen Kernäquivalent abzuleiten.

Im Zusammenhang mit den bisherigen Erfahrungen bei Bakterien ergibt sich bezüglich der Kernverhältnisse und des Entwicklungsganges derselben folgendes allgemeine Schema:



Schema 2. Entwicklung und Kernverhältnisse (Erklärung im Text): —→ ontogenetische Entwicklung, - - - -> mutmaßliche phylogenetische Entwicklung.

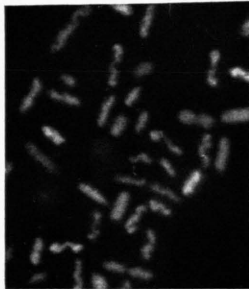
Bei Micrococcen — C_1 — (Krieg¹³) kommt es im Laufe der Individualentwicklung zur Längsteilung des kommaförmigen Kernäquivalents und im weiteren Verlauf zur Teilung der Zelle (Abb. 4). Der Zusammenhalt der Tochterzellen kann zur Bildung von charakteristischen Ketten — C_3 — etwa bei Streptococcen führen.

Bei Enterobakterien als gramnegativen Kurzstäbchen — B_1 — (Krieg^{5, 11}) wächst die dort typisch ausgebildete Kernspirale heran — B_2 — und teilt sich durch Fragmentation quer, dsgl. die im Anschluß daran zur Reproduktion schreitende Zelle. Dabei werden die Zellen immer kleiner bei Reduktion der Kernäquivalente und es entstehen oligoploide sog. sekundäre Formen. Anders verhalten sich die grampositiven Langstäbchen (Lactobakterien) und auch die grampositiven Sporenbildner (Bazillus). Bei ihnen entstehen lange polyploide und schließlich auch polyergide Fäden — B_3 —, die dann fragmentieren.

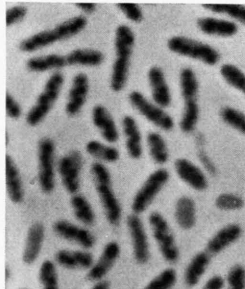
Während bei den nicht-sporenbildenden Bakterien die polyergiden Langstäbchen, die sich nicht mehr zu teilen vermögen, schließlich absterben, bilden diese bei den Sporenbildnern — S_4 — sog. Sporen als Stadien latenten Lebens aus, quasi als eine besondere Art einer „sekundären Form“. In diese Spore wird der endständige Teil der Spirale als reduziertes Kernäquivalent einbezogen (Krieg¹²) (Abb. 5). Dieses scheint dem haploiden Kernäquivalent von Coccen homolog zu sein. Bei der späteren Keimung wächst aus der Spore eine vegetative Zelle aus, während sich aus dem „Sporenkern“ wieder eine Spirale entwickelt — S_4/B_1 —.

Noch etwas komplizierter scheinen die Verhältnisse bei den Coryne- und Mycobakterien zu sein (Krieg¹⁴), die gelegentlich auch als Proactinomyceen angesprochen werden. Während sie sich in der logarithmischen Phase des Wachstums etwa wie Kurzstäbchen verhalten — B_1/B_2 —, neigen sie mit zunehmendem Alter, und zwar insbesondere die Mycobakterien, zu mycelartigem Wachstum bei Vermehrung durch Fragmente — A_3 —. Dazu bilden sich die spiralförmigen Kernäquivalente zu granulaartigen Gebilden, sog. Nucleoiden, um (Abb. 6). Diese sind z. T. schon in den noch stabförmigen Formen nachweisbar — A_3/A_4 — und sind für verzweigte Formen — A_5 — ganz charakteristisch (vgl. auch Kölbel¹⁵). Die verzweigten granulären Formen gehen beim Überimpfen auf frischen Nährboden

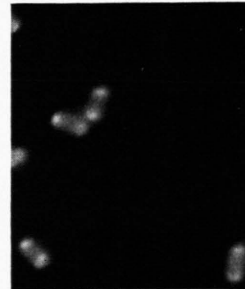
¹⁵ H. Kölbel, Z. Hyg. Infektionskrankh. 133, 45 [1951].



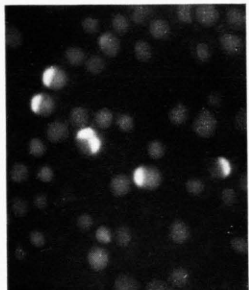
1



2



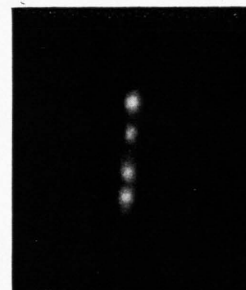
3



4



5



6

Abb. 1. Kernäquivalent v. *E. coli*: Kernspirale, Abb.-Maßstab 1600:1, Acridinorange 1:5000, dargestellte Strukturen in grüner Fluoreszenzfarbe.

Abb. 2. Paranucleoide v. *E. coli*, Abb.-Maßstab 1600:1. Phasenkontrast.

Abb. 3. Chondriosomen-Äquivalente v. *E. coli*, Abb.-Maßstab 1600:1, Berberinsulfat 1:1000, dargestellte Strukturen in gelber Fluoreszenzfarbe.

Abb. 4. Kernäquivalente v. *Micrococcus pyogenes*, Abb.-Maßstab 2500:1, Acridinorange 1:5000, dargestellte Strukturen in grüner Fluoreszenzfarbe.

Abb. 5. Kernäquivalente v. *Bacillus*: Sporenbildung, Abb.-Maßstab 1250:1, Acridinorange 1:5000, dargestellte Strukturen in grüner Fluoreszenzfarbe.

Abb. 6. Kernäquivalente v. *Mycobacterium Tbc.*: granuläre Form, Abb.-Maßstab 5000:1, Acridinorange 1:5000, dargestellte Strukturen in grüner Fluoreszenzfarbe.

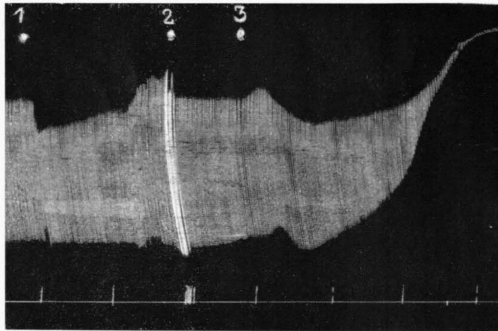


Abb. 1. Isol. Herz v. *Rana* temp. 1: Fruchtsaft 1:100; 2: Auswaschen mit Ringerlösung; 3: Samen 1:2000; Zeitmarkierung: 1 Min.).

wieder in Formen mit deutlich nachweisbaren Kernspiralen und normalem Teilungswachstum — B_1/B_2 — über. Wahrscheinlich sind monergide haploide Fragmente von verzweigten Formen mit den oft diskutierten Sporiden identisch. Diese wären dann den Exosporen von Actinomyceten homolog, deren vegetative Stadien sich vornehmlich auf mycelartiges Wachstum beschränken.

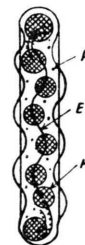
Über large-bodies und andere Involutionenformen als pathologische Reaktion der Bakterien auf verschiedene unspezifische Reize sowie über die als Regenerationsformen zu betrachtenden L-Formen soll hier weiter nichts berichtet werden. Doch darf nicht unerwähnt bleiben, daß bei einem cyclogenetischen Formenwechsel über solche Formen die Artspezifität voll erhalten bleibt, wie u. a. Dienes¹⁶ und v. Prittwitz und Gaffron¹⁷ zeigen konnten.

Bezüglich eines genetischen Faktorenaustauschs bei Bakterien (Transduktion, Crossing over) ist zu sagen, daß dieser nicht die Regel zu sein scheint, sondern mehr eine Ausnahme. Die Hauptfaktoren der Bakterienphylogenie sind bei durchweg asexueller Vermehrungsweise Mutation und Selektion. Zusammenfassend über neuere Ergebnisse der Bakteriengenetik, einschließlich des Faktorenaustauschs, hat Kaplan¹⁸ berichtet.

Während die Darstellung der DNS-haltigen Kernäquivalente in vivo in Form von Spiralen (Abb. 1) mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops gelingt, läßt sich ein offenbar RNS-haltiges heterochromatisches System (sog. Paranucleoide) bei Bakterien phasenoptisch in vivo darstellen (Abb. 2). Dieses System besteht aus granulaartigen Elementen von etwa $0,2-0,4 \mu$, die der Kernspirale aufgelagert sind. Mit dem Phasenkontrastmikroskop beobachtet man im allgemeinen eine perlschnurartige Anordnung dunkler Paranucleoide meist linear im Bakterienkörper (vgl. Knöll, Winkler). In besonders günstigen Fällen jedoch gelingt der Nachweis, daß ihre Anordnung der Kernspirale folgt (Abb. 2 — vgl. Krieg¹⁹). In Analogie zum Nucleolus-System höherer Zellen scheint eine Relation zwischen der Ausbildung der Paranucleoide und der Intensität der Eiweiß- (bzw. Plasma-) Synthese zu bestehen: Die Paranucleoide sind nur in der Latenzphase und zu Beginn der logarithmischen Phase, also zur Zeit des

maximalen Plasmazuwachses, optimal ausgebildet und deutlich beobachtbar. Nach Caspersson²⁰ induziert nämlich das Nucleolus-Heterochromatin-System die protoplasmatische Eiweißzeugung. Was die Entstehung der Paranucleoide betrifft, so dürfte diese sich analog zur Entwicklung der Nucleoli höherer Kernsysteme vollziehen. Der Nucleolus entsteht nach Caspersson und Thorell an einem kleinen nucleal-positiven Chromozentrum, dem sog. nucleolus-associated chromatin. Vor diesem verschwindet er wieder bei regressiven Vorgängen. Um solche aber handelt es sich dann beim Übergang der Bakterien von der logarithmischen Phase zur Interphase („ruhende Bakterien“).

Die aus den mitgeteilten Ergebnissen resultierende Auffassung des Verfassers über den Kernaufbau eines Bakteriums (*E. coli*) soll folgendes Schema verdeutlichen:



Schema 3. Aufbau eines Bakteriums: P = Zytoplasma, E = (DNS) Euchromatin (Kernspirale). H = (RNS) Heterochromatin (Paranucleoide).

Nun existiert bei Bakterien noch ein weiteres basophiles System mit einer deutlichen Abhängigkeit vom Lebenszyklus: Die metachromatischen Körnchen (syn. Volutingranula), welche insbesondere bei *Corynebacterium diphtheriae*, aber auch bei Mycobakterien und Actinomyceten die Phako-Struktur bestimmen können, indem sie ebenfalls als dunkle, etwa $0,2$ bis $0,4 \mu$ dicke Granula in Erscheinung treten. Aber auch bei verschiedenen Bazillen, Bakterien, Coccen, ferner bei *Azotobakter*, *Spirillum volutans*, bei Cyanophyceen und nicht zuletzt bei Hefen, Pilzen und Algen wurden sie nachgewiesen. Im Gegensatz zu den Paranucleoiden sind diese Grana insbesondere bei nicht-säurefesten Bakterien mit Acridinfarbstoffen als rötlich leuchtende Strukturen fluoreszenzmikroskopisch deutlich darstellbar. Außer Metaphosphaten

¹⁶ L. Dienes, J. Bacteriol. 57, 529 [1951].

¹⁷ v. Prittwitz u. J. Gaffron, Naturwissenschaften 40, 590 [1953].

¹⁸ R. W. Kaplan, Zbl. Bakteriolog., Parasitenkunde Infektionskrankh., Abt. I, Orig. 160, 181 [1953].

¹⁹ A. Krieg, Zbl. Bakteriolog., Parasitenkunde Infektionskrankh., Abt. I, Orig., im Druck.

²⁰ T. Caspersson, Naturwissenschaften 29, 33 [1941].

(Wiame²¹) sollen diese Grana auch RNS (Caspersson und Brandt²²) enthalten (vgl. auch König und Winkler²³). Wachstein und Pisano²⁴ konnten nun weiterhin in den Grana eine Phosphatase nachweisen. Mudd und Winterscheid²⁵ stellten schließlich eine enge Beziehung dieser Grana zum Oxydo-Reduktions-System der Bakterienzelle fest, und zum anderen eine für die Chondriosomen höherer Zellen charakteristische Färbbarkeit mit Janusgrün. Auf Grund dieser Tatsache sehen die genannten Autoren in den metachromatischen Granula Chondriosomen-Äquivalente. Eine fakultative Metaphosphatspeicherung (in der postlogarithmischen Phase) an diesen Orten ist nicht unwahrscheinlich, da den Chondriosomen nach neuerer Auffassung eine zentrale Stellung im Energiehaushalt und Phosphatstoffwechsel der Zelle zugeschrieben wird. Nach Lang wird nämlich die nötige Energie für Vorgänge im Karyoplasma durch Spaltung von energiereichem Phosphat gedeckt, das dem Kernsystem von den Chondriosomen zugeführt wird. Diese aber enthalten die Enzyme der biologischen Redox-Vorgänge (Atmungsfermente) in bestimmter Anordnung. In Ergänzung hierzu ist es gelungen, mit Hilfe von Redoxindikatoren (Triphenyltetrazoliumchlorid — TTC, Neotetrazoliumchlorid — NTC, K-tellurit) sog. Reduktionsorte in Bakterien nachzuweisen (Bielig, Kausche, Haardick²⁶; Wachstein²⁷). Im Anschluß an Modellversuche an Hefen ist es dem Verfasser (Krieg²⁸) dann gelungen, mit Hilfe des Atmungsgiftes Berberin fluoreszenzmikroskopisch die den Reduktionsorten zugeordneten Chondriosomen-Äquivalente bei Bakterien selektiv darzustellen (Abb. 3). Dabei zeigte es sich, daß die metachromatischen Körperchen ebenfalls Berberin speichern und damit, wie schon oben angedeutet, als Chondriosomen-Äquivalente aufzufassen sind, in denen Metaphosphat fakultativ gespeichert wird. Interessant ist in diesem Zusammen-

hang auch die Tatsache, daß es bei Züchtung auf phosphatreichen Nährböden zur Bildung von Metaphosphat-Granula auch bei Bakterien kommen kann, die normalerweise an ihren Reduktionsorten bzw. Chondriosomen-Äquivalenten keine Metaphosphate speichern, wie z. B. *E. coli*, und daß andererseits eine Metaphosphatspeicherung allgemein unter anaeroben Bedingungen nicht stattfindet (Winkler²⁹).

Während Bielig, Kausche und Haardick²⁶ eine praktisch isotope Lokalisation von Nucleoiden und Reduktionsorten angenommen haben, nimmt Bringmann³⁰ insbesondere für Actinomyceten und Cyanophyceen, aber auch für Myco- und Corynebakterien sogar eine isotope Lokalisation von DNS- und RNS-System in komplexen metachromatischen Körperchen an, denen er ebenfalls Chondriosomen-Äquivalenz zuschreibt. Diese Gebilde bezeichnet er im Gegensatz zu den nur DNS-haltigen Nucleotiden, z. B. bei *E. coli*, als „Karyoide“. Der erste Befund ist von Preuner, v. Prittwitz und Gaffron³¹ in Zweifel gezogen worden, und zur Ansicht von Bringmann hat Tronnier³² Stellung genommen. Dieser konnte speziell an *Corynebacterium diphtheriae* zeigen, daß Kernäquivalente und Metaphosphatgranula örtlich getrennt voneinander differenzierbar sind. Der Verfasser konnte auch bei *Azotobacter*³³ und Cyanophyceen³⁴ feststellen, daß Kernäquivalente und metachromatische Körper ebenso wie bei Hefe- und Algenzellen nicht identisch sind.

Bezüglich der Zuordnung der Chondriosomen zum Heterochromatin-System bestehen auch bei höheren Zellen keine einheitlichen Ansichten. Nach Zollinger³⁵ gibt der Nucleolus (entspricht bakteriellen Paranucleoiden — Abb. 2) RNS an das sog. Golgi-Feld des Plasmas ab, wo sich als Jugendstadien sog. Mikrosomen bilden (nur diese speichern in höheren Pflanzenzellen Berberin). Aus diesen entstehen durch Wachstum die Mitochondrien, die sich sekundär auch zu teilen vermögen (Regenerations- und Reproduktionsvermögen). Bei Bakterien könnte das Ent-

²¹ J. M. Wiame, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **1**, 234 [1937].

²² T. Caspersson u. A. Brandt, *Protoplasma* **35**, 507; **36**, 77 [1941].

²³ H. König u. A. Winkler, *Naturwissenschaften* **35**, 136 [1948].

²⁴ M. Wachstein u. M. Pisano, *J. Bacteriol.* **59** [1950].

²⁵ S. Mudd, C. L. Winterscheid u. Mitarbb., *J. Bacteriol.* **62**, 459 [1951].

²⁶ H. J. Bielig, G. A. Kauscha u. H. Haardick, *Z. Naturforsch.* **4b**, 80 [1949]; *Naturwissenschaften* **39**, 354 [1952].

²⁷ M. Wachstein, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **72**, 175 [1949].

²⁸ A. Krieg, *Naturwissenschaften* **41**, 19 [1954].

²⁹ A. Winkler, *Ref. Internat. Microbiol. Congress*, Rom [1953].

³⁰ G. Bringmann, *Planta* **40**, 398 [1952]; *Zbl. Bakteriell., Parasitenkunde Infektionskrankh. Abt. II*, **107**, 40 [1952].

³¹ R. Preuner, v. Prittwitz u. J. Gaffron, *Naturwissenschaften* **39**, 128 [1952].

³² E. A. Tronnier, *Zbl. Bakteriell., Parasitenkunde Infektionskrankh. Abt. I, Orig.* **159**, 213 [1952].

³³ A. Krieg, *Naturwissenschaften*, im Druck.

³⁴ A. Krieg, *Experientia* [Basel], im Druck.

³⁵ H. U. Zollinger, *Experientia* [Basel] **6**, 14 [1950]; *Rev. Hématol.* **5**, 696 [1950].

stehungsprinzip ein ähnliches sein: Im Zusammenhang mit den Paranucleoiden kommt es im subpolaren Bacterioplasm zur Bildung von Chondriosomen-Äquivalenten.

Die mit Hilfe von Berberin darstellbaren Chondriosomen-Äquivalente befinden sich in Bakterien einzeln polar vom Kernäquivalent (Abb. 3). In Micrococccen finden sich meist 1 bis 4 Chondriosomen-Äquivalente, die sich der Membrankonkavität anlehnen. Auf diese Weise können sog. Wagenrad-Strukturen entstehen. Anordnungen mit vielen Chondriosomen-Äquivalenten (bis zu 10) sind insbesondere für die großen Azotobacter-Zellen typisch (Krieg³³).

Im Zusammenhang mit der Darstellung der DNS-haltigen euchromatischen Kernspirale und RNS-reichen heterochromatischen Anteilen (Paranucleoide) der Kernäquivalente erhebt sich auch die Frage nach deren Korrelation zum Zytoplasma. Ein Ausdruck dieser Zuordnung von Karyoplasma und Zytoplasma bei höheren Zellen ist die sog. Kern-Plasma-Relation, die ihrem Sinne nach auch bei Bakterien zu gelten scheint, und welche eine stoffwechselphysiologische Notwendigkeit darstellt. Dies geht insbesondere aus den Überlegungen von Lindgren³⁶ hervor, die sich auf Beobachtungen an Hefen stützen. Hiernach wird in einer ruhenden Zelle, die unter wachstumsfördernden Bedingungen gehalten wird, zunächst nur eine Neubildung von Kernmaterial induziert. Damit verschiebt sich die Relation zwischen Kern- und Plasmamasse zugunsten der ersteren. Als Gegenregulation hierauf setzt dann eine Plasmasynthese ein und die Zelle wächst aus, bis das „Ruhezell“-Kern-Plasma-Gleichgewicht wieder hergestellt ist. Die beiden Vorgänge folgen dabei zeitlich deutlich nacheinander.

Über den Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsel der Bakterien in Abhängigkeit von der Entwicklungsphase (Kulturstatus) läßt sich folgendes sagen: Ganz analog zur Metaphase höherer Zellen findet bei Bakterien in der Latenzphase (Malmgren und Heden³⁷) eine relative Anreicherung von Nucleinsäuren im Karyoplasma statt, während bei ruhenden Bakterien wie in der Interphase höherer Zellen eine relative Anreicherung von Eiweiß stattfindet. Die Vermehrung der Nucleinsäuren kommt auch hier einem Druck zur Reproduktion hin gleich.

³⁶ C. C. Lindgren u. S. A. Haddad, Exp. Cell. Res. 5, 549 [1953].

³⁷ Heden Malmgren, Acta path. microbiol. scand. 24, 418 [1947].

Nach Caspersson²⁰ sind die Nucleoproteide nicht nur zur identischen Reproduktion, sondern auch zum Aufbau korrespondierender Eiweißkörper befähigt. Sie sind damit Orte der Eiweißsynthese in den Zellen. Bei der Tätigkeit der Nucleoproteid-Systeme spielen wahrscheinlich Nucleasen (Phosphatasen) als Regulatoren eine große Rolle.

Wie steht es nun mit der Lokalisation und Genese von Wirkstoffen, den Fermenten oder Enzymen, die der Zelle ihr charakteristisches stoffwechselphysiologisches Gepräge verleihen und damit weitgehend ihr ökologisches Verhalten als wesentlicher Teil des Phänotypus bestimmen? Die Produktion bzw. Induktion dieser Erscheinungen durch den Genotypus ist evident. Nach den neueren Ergebnissen der experimentellen Genetik (vgl. Beadle, Tatum, Horowitz u. a.³⁸) gewinnt sogar die „Ein-Gen-ein-Ferment-Hypothese“ sehr an Wahrscheinlichkeit, wonach ein Enzym — und damit eine bestimmte Reaktion im Stoffwechsel der Zelle — einem Gen zugeordnet ist.

Nach Karström³⁹ sind die Fermente in zwei Gruppen unterteilt, in die sog. konstitutiven einerseits und die adaptiven andererseits. Die konstitutiven Enzyme sind durchweg Endoenzyme, die scheinbar stets in größerer Menge vorliegen und vornehmlich an der Energieerzeugung innerhalb der Zelle beteiligt sind. Sie zeigen einen deutlichen Aufbau aus einem apoenzymatischen Eiweißanteil und einem vom Stoffwechselapparat synthetisierten oder nutritiv aufgenommenen relativ niedermolekularen Coenzym. Zu diesen Fermenten gehören einmal die ATP-ase, die Häminfermente, die Cyclophorase und schließlich die Gärungsfermente. Von diesen sind die ersteren als „Atmungsfermente“ auch bei Bakterien in besonderen Strukturelementen, sog. Enzymoiden, als Desmoenzyme lokalisiert. Die Enzymoide konnten wie bei höheren Zellen in mitochondrialen Elementen nachgewiesen werden, die sich — wie bereits erwähnt — einmal als Reduktionsorte und zum anderen als „Speicher“ für spezifische Atmungsgifte (Berberin) zu erkennen geben.

Die Gärungsfermente dagegen, die vor allem den Abbau von Monosacchariden zu Milchsäure bewirken, sind nicht strukturgebunden und daher als sog. Lyoenzyme funktionstüchtig isolierbar. Sie sind außerdem leicht dissoziierbar in ihre beiden Anteile Apoenzym und Coenzym, wobei ersterem die Sub-

³⁸ G. W. Beadle, Sci. Progr. 5, 166 [1947].

³⁹ K. Karström, Ergebn. Enzymforsch. 7, 350 [1938].

strat-, dem letzteren die Wirksamkeit zukommt.

Die adaptiven Enzyme, welchen vornehmlich die Bereitstellung von Stoffen obliegt, stellen demgegenüber meist Ektoenzyme dar, d. h. sie werden sogar an das Nährmedium abgegeben. Zu ihnen gehören Zymasen und Hydrolasen (vor allem die Carbohydrasen). Bei den proteolytischen Fermenten der Bakterien handelt es sich um Ektoenzyme, während die Peptidasen interessanterweise Endo-Lyo-Enzyme darstellen. Im Gegensatz zu vielen konstitutiven Enzymen gelingt bei den adaptiven Enzymen eine präparative Unterscheidung von Co- und Apoenzym im allgemeinen nicht. Was nun die Adaptation dieser Fermente betrifft, so kann diese schnell oder langsam im Hinblick auf die Lebensdauer der an das Substrat sich adaptierenden Zelle erfolgen. Die schnelle Adaptation wird nach Yudkin⁴⁰ mit Hilfe des Massenwirkungsgesetzes erklärbar: Die Enzyme und ihre Vorstufen stehen in einem Gleichgewicht, welches zu Gunsten letzterer verschoben ist, so daß nur eine geringe Menge Enzym anwesend ist. Dieses Gleichgewicht kann durch das Substrat oder seine Hydrolyseprodukte gestört werden, wobei mehr Enzym aus der Vorstufe gebildet werden muß, um dieses wieder herzustellen usw. Hier liegt auf jeden Fall die Vorstufe (Proenzym) bereits vor, gewissermaßen griffbereit. — Anders ist es bei der langsamen Adaptation, bei der der Vorgang weiter zurückgreift, offenbar bis zu den sog. Plasmagenen. Hier erfolgt auf Grund des großen Zeitfaktors und der der Enzymbildung zu Grunde liegenden Variabilität eine natürliche Auslese im Laufe der folgenden Zell-Generationen (Selektion). Solche Verhältnisse interpretiert Spiegelmann⁴¹ auf Grund von Beobachtungen über die Galactozymase-Adaptation der Hefe mit Hilfe seiner „Plasmagen-Theorie“. Diese Theorie scheint etwas Licht zu werfen in die sonst noch dunklen Verhältnisse der Enzymbildung und ihrer Beziehung zum Genotypus: Die mehr oder minder ähnlichen Abbilder der Gene, die ins Zytoplasma als sog. Plasmagene eintreten, besitzen in unterschiedlichem Maße die Befähigung zur Reproduktion. Sie konkurrieren untereinander um Eiweiß (Proenzym) und Wirkungsmöglichkeit (Substrat). Resultat dieses intracellulären „Kampfes ums Dasein“ ist der enzymatische Phänotyp des Plasmas. Die Bedeutung des Substrates für die Fermenterzeugung scheint darin

zu bestehen, daß das Substrat das Enzym (gedacht als Komplex Plasmagen-Proenzym) vor Inaktivierung zu schützen scheint. Bei diesen Enzymen hängt also die Tatsache, ob sie von einer Generation an die nächste nach den Gesetzen der kerngebundenen Vererbung weitergegeben werden, davon ab, wie stark die Selbstreproduktion der Plasmagene im Verhältnis zu der der Gene ist: Bakterienzellen mit gleichem Genom brauchen nicht die gleiche enzymatische Konstitution zu besitzen (Krieg⁴²). Ob ein Ferment sich nun schnell oder langsam adaptiert, ist letzten Endes eine mehr quantitative als qualitative Frage. Sie wird in jedem Fall durch das spezifische Substrat induziert. Im einen Fall kommt es zu einer gesteigerten Verwendung von gespeichertem, im anderen Falle zur gesteigerten Produktion des apoenzymatischen Eiweißanteils. Nach den Ergebnissen der Fermentchemie kommt nämlich lediglich dem apoenzymatischen Fermentanteil die Substratspezifität zu. — Die langsame Adaptation führt infolge Variabilität und Selektion zum Erscheinungsbild der reversiblen Variation, der sog. Modifikation.

Etwas ganz anderes erfolgt dagegen bei der durch bestimmte extreme Einflüsse (energiereiche Quanten, Kerngifte) induzierten irreversiblen Variation, der sog. Mutation. Bei ihr fällt im Anschluß an das mutagene Primäreignis das genetische Äquivalent einer Fermentreaktion aus, was sehr oft zur Lebensunfähigkeit der Nachkommen führt (Letalmutation). Besonders interessant ist das Studium noch lebensfähiger stoffwechsel-physiologischer Minusvarianten, welche zur Aufklärung biochemischer Reaktionsketten beizutragen vermögen und die die bereits zitierte „Ein-Gen-ein-Ferment-Hypothese“ wahrscheinlich gemacht haben. Die nicht selten auftretenden sogenannten Rückmutationen stehen nicht im Widerspruch zur Irreversibilität des Evolutionsgeschehens. Untersuchungen über die Chemie des Mutationsmechanismus an Viren (Schramm⁴³) deuten darauf hin, daß die genetische Mutation eine Einflußnahme auf den Eiweißanteil des als DNS-Protamin gedachten Genmoleküls darstellt. Dies stünde im Einklang mit der Theorie der identischen Reproduktion nach dem Matrizenprinzip, wonach die Nucleinsäuren lediglich zur Übertragung des Ladungsmusters auf das entstehende Duplikat dienen.

⁴⁰ Yudkin [1938], zit. n. Topley-Wilson, Principles of Bacteriology usw., 3. Aufl., London 1946.

⁴¹ S. Spiegelmann u. Mitarbb., J. gen. Physiol. 31, 175 [1947].

⁴³ G. Schramm, Z. Naturforsch. 3b, 320 [1948].

⁴² A. Krieg, Zbl. Bakt. u. Parasitenkunde Infektionskrankh. Abt. I, Orig. 157, 369 [1951].