

nel sangue dei polli con sarcoma di Rous si trova un aumento del P proteico del plasma: l'agente cancerogeno, che qui circola sicuramente nel sangue, potrebbe essere rappresentato da una proteina fosforata.

La ricerca moderna dovrebbe essere indirizzata alla separazione e precisa dimostrazione dell'agente della malignità, dell'enzimoproteide riproducentesi con la cellula (FLASCHENTRÄGER e BULLET). Non mancano tentativi a questo proposito ed io pure ne ho fatto uno¹, con risultato tuttavia per ora incerto: io avevo praticato estrazioni acquose, in soluzione alcalina, di sarcomi da benzopirene del ratto; e con questi estratti avevo ottenuto una volta un grosso tumore in un ratto. Tuttavia si potrebbe obiettare che con gli estratti si è trasportato una traccia del potente agente cancerogeno, il benzopirene. Bisognerebbe dunque ripetere l'esperimento su molti animali ed ottenere un trasporto in serie, escludendo la possibilità dell'aderenza di tracce dell'agente cancerogeno alle frazioni proteiche dell'estratto.

Lo studio del cancro può essere considerato insomma come un problema di chimica fisica delle proteine. Questo indirizzo della ricerca è forse più fruttuoso di tutti i numerosissimi lavori concernenti i processi os-

sido-riduttivi (glicolisi, ecc.), i quali danno una indicazione sulla sorgente dell'energia nella cellula ma non dicono niente sul punto essenziale ossia sulla maniera con cui questa energia è utilizzata per costruire un edificio protoplasmatico anormale.

Résumé

On met en évidence quelques caractères qui font ressembler la cancérisation de la cellule à ce remaniement moléculaire des protéines qui est connu sous le nom de dénaturation. En effet la réaction cancérogène, ainsi que la dénaturation protéique, est une réaction «tout ou rien», elle est irréversible et son étiologie n'est pas unique; en outre, dans la première aussi bien que dans la seconde, on a une augmentation de l'entropie du système de même qu'une forte chaleur d'activation. On rappelle le phénomène de l'induction de la dénaturation protéique et on admet l'hypothèse que l'agent de la malignité, évoqué dans la cellule par l'influence de facteurs externes connus (hydrocarbures aromatiques, radiations pénétrantes, parasites, etc.) ou inconnus, soit une sorte de produit de dénaturation comparable à une virus-protéine endogène. On rapporte certains de ses caractères présumables, par exemple sa reproduction pendant la multiplication cellulaire (il devient ainsi une acquisition permanente de la souche cellulaire), son lien intime avec les structures cellulaires, son association avec l'acide nucléique. La cancérogénèse, ainsi que la *reproduction des virus-protéines* et la *formation des anticorps*, doit être classée parmi les synthèses du type à *induction anormale*; elle est, en tous cas, un problème de synthèse protéique.

¹ RONDONI, Tumori 29, 143 (1943).

Zur Wasserpermeabilität des Protoplasmas

Von A. FREY-WYSSLING, Zürich

1. Problemstellung

In der Zytologie spielt die Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten, d. h. der Unterschied ihrer Durchlässigkeit für Wasser und gelöste Stoffe, eine große Rolle; denn hiervon hängen alle osmotischen Erscheinungen, wie Turgorschwellung, Plasmolyse, Deplasmolyse, Plasmoptyse usw., ab. Trotz der zentralen Stellung dieses Problems gibt es im ausgedehnten Schrifttum über die Permeabilitätserscheinungen keine quantitativen Angaben, die gestatten würden, die Permeabilität für gelöste Moleküle und für Wasser physikalisch einwandfrei miteinander zu vergleichen. Dies rührt daher, weil als Ursache für den Stoffdurchtritt Konzentrationsunterschiede, für den Wasserdurchtritt dagegen osmotische Druckunterschiede angenommen werden.

Als Folge hiervon haben die Permeationskonstanten ganz verschiedene Dimensionen, je nachdem es sich um den Durchtritt von Wasser- oder anderen Molekülen handelt. Die Konstanten für die Stoffpermeation geben an, wie viele Mole beim Konzentrationsunter-

schied 1 Mol pro Volumeinheit in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit durchtreten; hieraus ergibt sich die Dimension Länge/Zeit, z. B. $\mu \cdot \text{min}^{-1}$; diese Konstanten sind sehr klein, sie werden daher häufiger in $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$ angegeben. Bei der Wasserpermeation ist die Durchtrittskonstante jedoch definiert als das Volumen Wasser, das bei 1 Atmosphäre osmotischem Druckunterschied in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit durchtritt; das ergibt die Dimension Länge/Druck · Zeit; allgemein werden diese Konstanten in $\mu \text{Atm}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ausgedrückt¹. Bei der Wasserpermeabilität geht man von der wohl falschen Vorstellung aus, daß es sich um einen Filtrationsprozeß handle, bei dem die Wassermoleküle vom osmotischen Druck durch die semipermeable Haut gepreßt werden. Nicht alle Zytologen sind jedoch von der Richtigkeit dieser Annahme ganz überzeugt, denn JACOBS und STEWART²

¹ FREY-WYSSLING und v. RECHENBERG-ERNST, Über die Wasserpermeabilität der Epithelzellen von Hydathoden, Flora 37, 193 (1943).

² JACOBS und STEWART, A simple method for the quantitative measurement of cell permeability, J. cell. comp. Physiology 1, 75 (1932).

schreiben z. B., die Wasserpermeabilität sei im Gegensatz zur Stoffpermeabilität «more nearly» proportional dem osmotischen Druck. Und WARTIOVAARA¹ berechnet für die besonders günstigen Zellen der Characee *Tolypellopsis* erstmals eine Wasserpermeationskonstante in $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$.

Alle übrigen Angaben in der Literatur² geben jedoch die Wasserpermeabilität in den oben erwähnten Filterkonstanten an. Die Permeationskonstanten für gelöste Stoffe sind dagegen den Diffusionskonstanten vergleichbar. Man kann deshalb in keinem Falle angeben, wievielmals schneller ein Wassermolekül durch das Plasmalemma wandert als irgendein anderes Molekül; denn das Filterpotential beruht auf Druckunterschieden, das Diffusionspotential dagegen auf Konzentrationsunterschieden.

Wenn man daher einen einwandfreien Vergleich zwischen Wasser- und Stoffpermeabilität durchführen will, muß man die beiden Wanderungen vom gleichen Gesichtspunkt aus betrachten. Da die Permeationserscheinungen sicher Diffusions- und keine Druckfiltrationsvorgänge sind, müssen wir bei unseren Betrachtungen analog zur Stoffkonzentration den Gehalt eines bestimmten Volumens an Wasser als «Wasserkonzentration» betrachten.

2. Wasserkonzentration

Bekanntlich gelten die klassischen VAN 'T HOFF'schen Gesetze nur für verdünnte Lösungen. Die Konzentrationen, die bei Permeationsversuchen verwendet werden, liegen alle weit außerhalb des Gültigkeitsbereiches der osmotischen Gesetze. Dies trifft insbesondere zu, wenn man Versuche in Mischreihen von Alkoholen, Glykolen, Glycerin usw. mit Wasser anstellt. Arbeiten wir z. B. mit einer 10volummolaren Methylalkohollösung in Wasser, so nimmt der Methylalkohol ($\varrho = 0,79$) 40,5 V% der Mischung ein; in einer äquimolaren Glycerin-Wasser-Lösung beansprucht das Glycerin ($\varrho = 1,26$) dagegen 73 V% der Mischung. Nach der osmotischen Theorie müßte nun eine pflanzliche Zelle mit sehr wässrigem Zellsaft (annähernd 100 V% Wasser) an die beiden Lösungen gleich schnell Wasser abgeben, weil der Unterschied der osmotischen Drucke zwischen Zellsaft und Außenlösung in beiden Fällen 10 Molen entsprechen würde. Wie Abb. 1 zeigt, dürfte dies jedoch vom Standpunkt der Diffusionstheorie aus keineswegs der Fall sein, denn in der Glycerinlösung sind pro Volumeinheit soviel weniger Wasserteilchen vorhanden als in der Methylalkohollösung, daß das Diffusionspotential für Wasser zwischen Zellsaft und Glycerinlösung sicher größer ist als

zwischen Zellsaft und Methylalkohollösung. Es ist nicht einzusehen, warum Glycerin- und Methylalkoholmoleküle nach Maßgabe der Außenkonzentration in die Zelle hineindiffundieren sollen, das Wasser aber nicht nach dem gleichen Prinzip austreten soll. Wir können sagen, im ersten Falle besteht innerhalb und außerhalb der Zelle ein Konzentrationsunterschied

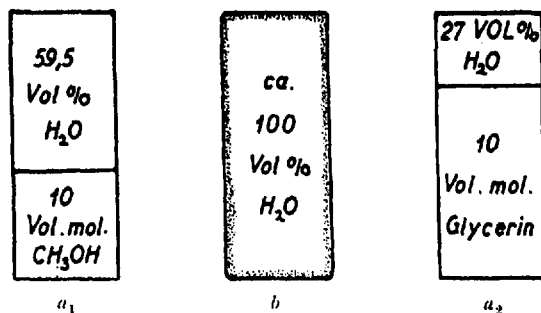


Abb. 1. Wassergehalt in V% von

- a₁ 10volummolarer Methylalkohol,
a₂ 10volummolare Glycerinlösung,
b Zellsaft einer pflanzlichen Zelle, deren osmotische Konzentration ~ 0 ist.

des Wassers von 40,5 V%, im zweiten dagegen von 73 V%. Dementsprechend wird das Wasser unter übrigens gleichen Bedingungen (keine Veränderung des Plasmagels) im zweiten Falle schneller aus der Zelle austreten als im ersten. Wir wollen daher für unsere konzentrierten Lösungen die Wasserpermeabilität, wie dies bei der Stoffpermeabilität geschieht, dem Konzentrationsunterschied proportional setzen. Die Konzentration soll jedoch nicht wie üblich in Gewichtsprozenten oder Molen pro Volumeinheit ausgedrückt werden (Dimension g/cm^3 oder Mol/cm^3), sondern in Volumprozenten (cm^3/cm^3), da diese das Mischverhältnis der verwendeten Lösungen in einfachster Weise wiedergeben. Die Konzentration in Volumprozenten läßt am besten erkennen, daß die Mischbestandteile physikalisch gleichwertig sind, wie dies für Mischungen von Flüssigkeiten ohne weiteres einleuchtet: der Alkohol ist im Wasser und das Wasser im Alkohol gelöst.

Auf Grund dieser Vorstellung dürfen wir nun annehmen, daß bei Permeationsversuchen das Wasser nach gleichen Prinzipien aus der Zelle herausdiffundiert, wie der zu prüfende Stoff eintritt. Es wird also eine gegenseinnige Diffusion stattfinden.

3. Gegenseinnige Permeation

Zur Berechnung der gegenseinnigen Diffusion «eintretender Stoff» gegen «austretendes Wasser» gehen wir vom FICK'schen Diffusionsgesetz aus, nach welchem die in der Zeit dt durch eine Membran tretende Stoffmenge dm proportional dem Diffusionskoeffizienten D , der zur Verfügung stehenden Oberfläche q , dem Kon-

¹ V. WARTIOVAARA, The permeability of *Tolypellopsis* cells for heavy water and methyl alcohol, Acta bot. fennica 34, 1 (1944).

² DAVSON and DANIELLI, The permeability of natural membranes, p. 117, Cambridge, University Press 1943.

zentrationsunterschied ΔC und umgekehrt proportional der Membrandicke Δs ist:

$$dm = D \cdot q \cdot \frac{\Delta C}{\Delta s} dt.$$

$\Delta C/\Delta s$ ist das Konzentrationsgefälle; bei den Permeationsversuchen ist dieses Gefälle leider unbekannt, weil man nicht weiß, welche Dicke das Plasmahäutchen besitzt, das für die Permeationsvorgänge maßgebend ist¹. Man nimmt daher die unbekannte Membrandicke Δs als konstant an und führt für $D/\Delta s$ als neue Konstante die *Permeationskonstante* P ein². Die Permeationsgleichung lautet dann

$$dm = P \cdot q (C - x) dt. \quad (1)$$

C ist die konstante Konzentration des permeierenden Stoffes außerhalb und x die variable Konzentration innerhalb der Zelle. Da bei tierischen Zellen die Binnenkonzentration wegen der Wechselwirkung zwischen Plasma und eingetretenem Fremdstoff (Plasmaquellung, Stoffwechsel) nicht leicht angegeben werden kann, wollen wir uns pflanzliche Zellen mit ihren großen Vakuolen vorstellen (Abb. 2); der Zellsaft Raum soll so groß sein, daß er praktisch das ganze Zellvolumen ausmacht, so daß das Plasmavolumen vernachlässigt werden kann.

In der Permeationsgleichung (1) kommen zwei von der Zeit abhängige Variable dm und x vor; diese können auf eine Variable reduziert werden, wenn wir beide Seiten der Gleichung durch das Zellvolumen v_0 dividieren. Wir erhalten dann $dm/v_0 = dx$, d. h. die Konzen-

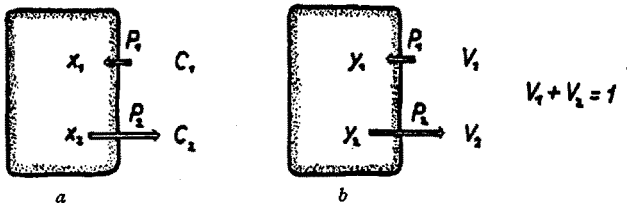


Abb. 2. Gegenständliche Diffusion durch den Plasmabelag einer pflanzlichen Zelle. P_1 Permeationskonstante des eindringenden Stoffes, P_2 Permeationskonstante des austretenden Wassers. Während bei freier Diffusion die gegenseitige Wanderung durch eine Konstante (Diffusionskonstante D) eindeutig gegeben ist (z. B. Sauerstoff in Stickstoff und umgekehrt), verursacht eine schwer durchlässige Haut Bremseffekte, die für verschiedene Stoffe ungleich ausfallen. *a* wandernde Stoffmengen in Konzentrationen C und x ausgedrückt; *b* wandernde Stoffmengen in relativen Volumina V und y ausgedrückt.

trationsänderung im Zellsaft in der Zeit dt , und $q/v_0 = Q$, d. h. die Oberflächenentwicklung der Zelle:

$$dx = P \cdot Q (C - x) dt. \quad (2)$$

Diese Permeationsgleichung (2) ist von großem Interesse, weil sie uns zeigt, daß die Konzentrationsänderung dx in der Zelle nicht von der Zelloberfläche q ,

sondern von der Oberflächenentwicklung (Zelloberfläche/Zellvolumen) abhängig ist. Bei gleicher Zelloberfläche q werden daher die Permeationsvorgänge bei kugeligen Zellen langsamer verlaufen als bei anisodiametrischen Zellen! Ebenso ist sofort ersichtlich, daß die Permeationskonstanten P die Dimension Länge/Zeit ($\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$ oder $\mu \cdot \text{min}^{-1}$) besitzen; sie unterscheiden sich also von den Diffusionskonstanten D , denen die Dimension Zeit/Fläche (meist in $\text{Tag} \cdot \text{cm}^{-2}$ angegeben) zukommt.

Die Gleichung (2) erlaubt, den gleichzeitigen Durchtritt von zwei Stoffen durch eine Membran in gegensätzlicher Richtung folgendermaßen darzustellen:

$$\begin{aligned} dx_1 &= P_1 Q (C_1 - x_1) dt \\ -dx_2 &= P_2 Q (x_2 - C_2) dt. \end{aligned} \quad (3)$$

Hiebei bezieht sich die erste Gleichung auf den eintretenden Stoff 1 (Permeationskonstante P_1) und die zweite auf das austretende Wasser, das als austretender Stoff 2 (Wasserpermeationskonstante P_2) betrachtet wird.

Um eine einfache Beziehung zwischen den Außenkonzentrationen C_1 des Stoffes 1 und C_2 des Wassers zu schaffen, führen wir die relativen Volumina ein¹. Zu diesem Zwecke denken wir uns die Konzentrationen in g/Volumeneinheit umgerechnet und dividieren beide Seiten der Gleichungen durch die Dichte des diffundierenden Stoffes. Die festen relativen Volumina der Außenlösung wollen wir als V_1 und V_2 und die variablen relativen Volumina der Binnenlösung als y_1 und y_2 bezeichnen. Die Gleichung (3) geht dann über in

$$\begin{aligned} dy_1 &= P_1 Q (V_1 - y_1) dt \\ dy_2 &= P_2 Q (V_2 - y_2) dt. \end{aligned} \quad (4)$$

Während die Permeationskonstante P nach (1) definiert ist als die Stoffmenge in Mol (oder g), die die Flächeneinheit des Plasmahäutchens bei der Konzentrationsdifferenz von 1 Mol (oder 1 g) pro Volumeneinheit² in der Zeiteinheit durchwandert, oder nach (2) angibt, welche Konzentrationsänderung der Zellsaft einer Zelle von der Oberflächenentwicklung 1 bei einer Konzentrationsdifferenz von 1 Mol (oder 1 g) pro Volumeneinheit in der Zeiteinheit erfährt, so kommt ihr nun nach (4) noch eine dritte Bedeutung zu: die Permeationskonstante P ist das Maß für die relative Volumveränderung, die eine Zelle von der Oberflächenentwicklung 1 in der Zeiteinheit erleidet, wenn der Unterschied der relativen Volumina des permeierenden Stoffes außerhalb und innerhalb der Zelle 1 beträgt. Experimentell bedeutet die zuletzt genannte Definitionsbedingung, daß man eine Zelle, deren Zellsaft frei vom permeierenden Stoff ist ($y=0$), in den

¹ FR. BACHMANN, Zur Analyse von Permeabilitätsmessungen, *Planta* (Berlin) 30, 224 (1939).

² COLLANDER und BÄRLUND, Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla*, *Acta bot. fennica* 11, 1 (1933).

¹ A. FREY-WYSSLING, Die Turgorschwankung bei Permeabilitätsversuchen, Gedenkschrift für G. SENN, Naturf. Ges. Basel 1945, S. 330.

² COLLANDER und BÄRLUND wählen als Volumeneinheit cm^3 statt l, als Flächeneinheit cm^2 und als Zeiteinheit die Stunde.

reinen Stoff ($V=1$) tauchen müßte; dies ist nur bei flüssigen Stoffen denkbar und würde zu Veränderungen der Plasmapermeabilität, d. h. also von P führen. Die Gleichung (4) ist daher für die Definition der Permeationskonstanten nicht gerade geeignet, trotzdem man sich in der Zytologie häufig mehr für die Volumveränderungen der Zellen als für die Konzentrationsänderungen im Zellsaft interessiert.

Die Integration des Gleichungspaares (4) ergibt

$$y_1 = V_1 \left(1 - \frac{V_1 - v_1}{V_1} \cdot e^{-P_1 Q t} \right)$$

$$y_2 = V_2 \left(1 + \frac{v_2 - V_2}{V_2} \cdot e^{-P_2 Q t} \right).$$

Hiebei bedeuten y_1 bzw. y_2 die relativen Volumina des eindringenden Stoffes und des Wassers im Zellsaft nach der Zeit t und v_1 bzw. v_2 die relativen Volumina im Zellsaft zu Beginn des Permeationsversuches ($t=0$). Nehmen wir an, der Zellsaft enthalte nichts vom Stoffe 1, und außerdem sei er eine verdünnte Lösung, wie er bei Süßwasseralgen vorkommt, so daß sein Stoffgehalt gegenüber dem der Außenlösung in erster Näherung vernachlässigt werden kann; dann betragen $v_1=0$ und $v_2=1$ (100 V% Wasser), und die Gleichungen vereinfachen sich zu

$$y_1 = V_1 (1 - e^{-P_1 Q t})$$

$$y_2 = V_2 \left(1 + \frac{V_1}{V_2} \cdot e^{-P_2 Q t} \right). \quad (5)$$

Die relativen Volumina y_1 bzw. y_2 streben also exponential jenen von V_1 und V_2 in der Außenlösung zu, erreichen diese aber erst nach sehr langer Zeit ($t=\infty$). Bevor das Gleichgewicht eingetreten ist ($t=\infty$), bleibt y_1 um ein negatives Zusatzglied kleiner als V_1 und y_2 um ein positives Zusatzglied größer als V_2 .

Vor dem Versuche betrug das relative Volumen der Zelle $v_1+v_2=1$, und nach eingetretenem Diffusionsgleichgewicht ist dieser Zustand wiederum erreicht: $V_1+V_2=1$. Während der Permeation ergeben sich jedoch Volumschwankungen, denn die Summe der beiden Gleichungen (5) ist nicht mehr 1, sondern beträgt

$$y_1 + y_2 = 1 - V_1 (e^{-P_1 Q t} - e^{-P_2 Q t}). \quad (6)$$

Je nachdem die Wasserpermeabilität P_2 größer oder kleiner als die Stoffpermeabilität P_1 ist, findet eine vorübergehende negative Volumschwankung (Turgorsenkung, schließlich Plasmolyse) oder eine positive Volumschwankung (Turgorsteigerung oder sogar Plasmoptyse) statt.

Um Gleichung (6) anwenden zu können, müssen die Konstanten für die Wasser- und die Stoffpermeabilität gleich definiert sein. Dies trifft jedoch, wie einleitend ausgeführt worden ist, in der herrschenden Permeabilitätslehre nicht zu, da man zur Kennzeichnung der Wasserdurchlässigkeit des Plasmas üblicherweise vom osmotischen Drucke statt von der Diffusionsgleichung ausgeht. Es stehen daher in der Literatur (mit Ausnahme des von WARTIOVAARA be-

rechneten Beispiels) keine P_2 -Werte zur Verfügung. Dieser Mangel kann mit Hilfe der Gleichung (6) behoben werden, da sie bei bekannter Volumänderung der Zelle die Wasserpermeationskonstante P_2 aus der Stoffpermeationskonstanten P_1 zu berechnen gestattet.

4. Die Permeationskonstante für Wasser

In Abb. 3 ist die relative Volumzunahme der Zelle durch den Stoffeintritt y_1 und die relative Volumabnahme durch den Wasseraustritt y_2 nach (5) gra-

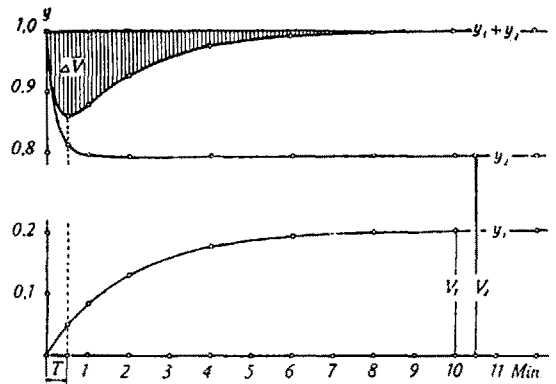


Abb. 3. Volumschwankung der Zelle in einer binären Lösung. Abszisse: Zeit t in Minuten; T = Stoßzeit.

Ordinate: relative Volumina y .

V_1 = relatives Volumen des gelösten Stoffes } im Außenmedium
 V_2 = relatives Volumen des Wassers } $V_1 + V_2 = 1$
 y_1 = relatives Volumen des eingetretenen Stoffes } im Zellsaft
 y_2 = relatives Volumen des Wassers } $y_1 + y_2 \neq 1$
 $y_1 + y_2$ = Zellvolumen; $\Delta V = 1 - (y_1 + y_2)$ = Volumabnahme.

phisch dargestellt, unter der Annahme, daß eine Charazelle von der Oberflächenentwicklung 25 cm^{-1} in eine Lösung mit 80 V% Wasser getaucht werde und daß P_1 $1 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ betrage und P_2 12mal größer sei. Die beiden Kurven y_1 und y_2 streben beide asymptotisch dem Gleichgewichtswerte V_1 bzw. V_2 zu. Wichtig ist, daß y_2 entsprechend dem größeren Exponenten P_2 stärker gekrümmt ist. Die Zelle erleidet daher anfangs einen starken Volumverlust, der nachher durch den Stoffeintritt wieder ausgeglichen wird. Diese Volumschwankung ist durch die Kurve $y_1 + y_2$ dargestellt. Es handelt sich um eine Minimumkurve, die erst steil abfällt und dann langsam aufsteigend die Volumschwankung wieder ausklingen läßt. Die kurze Zeit, die verläuft, bis die Zelle maximal entspannt oder geschrumpft ist, soll als Stoßzeit T bezeichnet werden. Sie ist durch den Umkehrpunkt der Volumkurve $y_1 + y_2$ gegeben und kann aus Gleichung (6) bestimmt werden, wenn man das Minimum jener Funktion durch Ableitung berechnet. Man erhält dann

$$P_1 \cdot e^{-P_1 Q T} = P_2 \cdot e^{-P_2 Q T}. \quad (7)$$

Wenn es gelingt, T experimentell zu messen, kann man bei bekanntem Q und P_1 die Wasserpermeationskonstante P_2 ermitteln. Da P_2 nicht explizite ausgedrückt werden kann, eignet sich hierzu am besten ein

graphisches Verfahren. Ein solches ist durch die logarithmierte Gleichung (7)

$$QTP_1 - \ln P_1 = QTP_2 - \ln P_2 \quad (8)$$

ermöglicht, wie dies in Abb. 4 zur Darstellung gelangt ist. Die Differenz $QTP_1 - \ln P_1$ ist gegeben, die Differenz $QTP_2 - \ln P_2$ dagegen gesucht. Man findet sie dort, wo der durch P_1 gegebene Abstand der Geraden

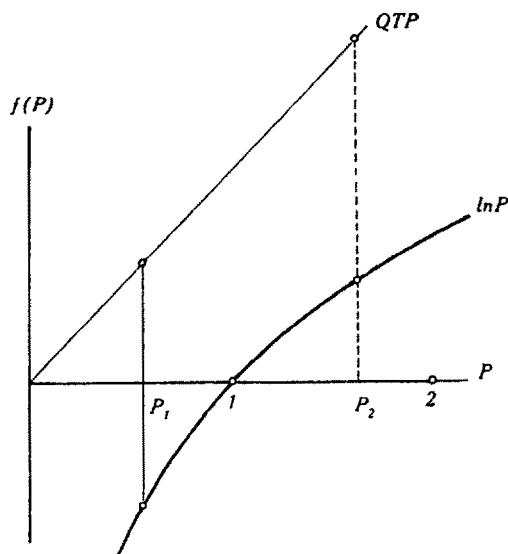


Abb. 4. Graphische Bestimmung der Wasserpermeationskonstanten P_2 .
Abszisse: Permeationskonstante P .
Ordinate: $QTP - \ln P$.

Q Oberflächenentwicklung der Zelle, T Stoßzeit (Plasmolysezeit);
 P_1 bekannte Permeationskonstante eines eindringenden Stoffes;
 P_2 unbekannte Permeationskonstante des Wassers.

QTP von der gekrümmten Kurve des natürlichen Logarithmus $\ln P$ in gleicher Größe zum zweiten Male auftritt.

Die Anwendung dieser Methode ist sehr einfach, weil die Logarithmenkurve für Versuche an Zellen mit verschiedener Oberflächenentwicklung Q oder bei der Verwendung von Stoffen mit verschiedenen Stoßzeiten T gleichbleibt. Bei der Ausführung von Versuchsreihen ändert sich daher nur die Neigung der Geraden QTP , und das zu P_1 gehörende P_2 kann nach Einzeichnung dieser Geraden sofort abgelesen werden!

Das Verfahren soll an folgendem Beispiel erläutert werden: COLLANDER und BÄRLUND haben an den Riesenzellen von *Chara ceratophylla*, die mehrere Kubikmillimeter große Vakuolen enthalten, durch Analyse des Zellsaftes die Permeationskonstanten zahlreicher Nichteletrolyte bestimmt. Ferner beobachteten sie, daß *Charazellen* in Methylalkohol-Wasser-Gemischen erst rasch schrumpfen und sich dann wieder ausdehnen. Die von ihnen veröffentlichten Volumkurven stimmen mit der theoretischen ΔV -Kurve von Abb. 3 überein und lassen eine Stoßzeit T von etwa $\frac{1}{3}$ Minute abschätzen. Die Oberflächenentwicklung der verwendeten zylindrischen Zellen wird mit $32,3 \text{ cm}^{-1}$ angegeben und der Permeationskoeffizient für Methyl-

alkohol als $\geq 0,99 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ gefunden. Aus diesen Daten errechnet man für die Wasserpermeationskonstante $P_2 \leq 16,7$; d. h. die Wasserpermeabilität der untersuchten Zellen ist maximal 17mal größer als die Permeabilität für Methylalkohol.

Der gefundene Wert von P_2 ist ungenau, da von P_1 nur ein Minimalwert bekannt und die Zeit T bloß geschätzt ist. Trotzdem dürfte er dem wahren Sachverhalt näher kommen als der P_2 -Wert, den WARTIOVAARA aus den Messungen von PALVA¹ an der nahverwandten Characee *Tolypellopsis stelligera* berechnet hat. Er benützt dazu die Halbwertszeit, d. h. die Zeit, bis die Hälfte des im Zellsaft vorhandenen Wassers ausgetreten ist, und findet $0,43 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$. Dieser P_2 -Wert ist sicher zu klein, weil er niedriger als die P_1 -Werte der *Tolypellopsis* von $1,7 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ für Methylalkohol und von $1,6 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ für schweres Wasser ausfällt. Nach den Beobachtungen von COLLANDER und BÄRLUND ist die Permeabilität der untersuchten *Chara* für Wasser jedoch größer als für Methylalkohol. WARTIOVAARA macht die Verdünnung in der Zellumgebung durch das austretende Wasser dafür verantwortlich, daß der P_2 -Wert aus den Messungen von PALVA zu klein gefunden wird. Bei unserer Bestimmungsmethode vermindert diese Verdünnung des Plasmolytikums in der Zellumgebung nicht nur den Vorgang des Wasseraustritts, sondern gleichzeitig auch jenen des Stoffeintritts; es dürfte deshalb eine gewisse Fehlerkompensation stattfinden.

Die gefundenen Wasserpermeationskonstanten P_2 geben, wie oben ausgeführt worden ist, nach (4) die relative Volumänderung einer Zelle unter den Bedingungen $Q=1$ und $V_2=y_2=1$ an, oder nach (3) die Änderung des Wassergehaltes des Zellsaftes in g/cm^3 , wenn der Konzentrationsunterschied 1 g Wasser/cm^3 beträgt. Dagegen ist es nicht möglich, die Konzentrationen in $\text{Mol/Volumeneinheit}$ umzurechnen, weil wir nicht wissen, ob einzelne H_2O -Moleküle oder Assoziationen von mehreren Wassermolekülen wandern und das Molekulargewicht der diffundierenden Teilchen daher nicht bekannt ist. Es ist ein Vorteil des hier vorgeschlagenen Ermittlungsverfahrens, daß über den unbekannten molekularen Zustand des Wassers keine Voraussetzungen gemacht werden müssen.

5. Die Stoßzeit

Unsere Bestimmungsmethode erlaubt, neben der Berechnung von P_2 die Veränderlichkeit der Permeationskonstanten bei Anwendung von Konzentrationsreihen festzustellen. Nach (7) und (8) ist die Stoßzeit von V_1 und damit von der Konzentration der verwendeten Außenlösung unabhängig, d. h. sie sollte für jeden permeierenden Stoff und natürlich auch für Wasser eine charakteristische Größe sein. Falls man

¹ P. PALVA, Die Wasserpermeabilität der Zellen von *Tolypellopsis stelligera*, Protoplasma 32, 265 (1939).

daher in verschiedenen konzentrierten Lösungen verschiedene Stoßzeiten T findet, muß sich die Permeabilität verändert haben.

Bei dem erwähnten Versuche mit *Chara ceratophylla* läßt sich für 2 Mol Methylalkohol ($V_1=0,081$) als Außenmedium für $T \frac{1}{3}$ Minute abschätzen, für 4 Mol Methylalkohol ($V_1=0,162$) dagegen $\frac{1}{2}$ Minute¹. Nimmt man an, P_1 sei unverändert $0,99 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ geblieben, so erhält man nun für P_2 $9,3 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$, d.h. die Wasserdurchlässigkeit des Plasmas wäre von 16,7 um fast die Hälfte auf 9,3 abgefallen! Eine solche Verdichtung des Plasmahäutchens durch Methylalkohol könnte man sich gut vorstellen.

Durch weitere Zunahme von T (steilere Gerade QTP in Abb. 4) könnte P_2 schließlich gleich oder sogar kleiner als P_1 werden. Die charakteristische Eigentümlichkeit der Plasmolyse ist jedoch ihr rascher, explosionsartiger Eintritt. Die Stoßzeit T muß deshalb kurz bleiben. Es ist daher wahrscheinlich, daß sich bei der Verwendung von Plasmolysegemischen nicht nur die Wasserpermeabilität P_2 , sondern gleichzeitig auch die Stoffpermeabilität in gegenläufigem Sinne verändert.

Vermutlich sind die Permeations«konstanten» viel veränderlicher, als man in der Literatur im allgemeinen annimmt.

6. Plasmolyseversuche

Leider gibt es wenige Objekte, an denen man die zur Messung von kurzen Stoßzeiten zu verfolgenden Volumschwankungen so gut beobachten kann wie bei den Characeen. Dagegen bietet die Umkehrung der Plasmolyse zur Deplasmolyse, die in permeierenden Medien (Glyzerin, Harnstoff usw.) bei beliebigen Zellen verfolgt werden kann, ideale Bedingungen zur Messung der Zeit T , die dann die Plasmolysezeit vorstellt. Sie muß nach (7) von der Konzentration des verwendeten Plasmolytikums unabhängig sein.

Bei Plasmolyseversuchen muß man vorerst allerdings feststellen, ob es erlaubt ist, $v_2=1$ zu setzen, wie dies bei der Ableitung von Gleichung (5) geschehen ist. Es bietet keine Schwierigkeit, v_2 und eventuell auch v_1 in den Gleichungen beizubehalten, nur wird dann die graphische Bestimmungsmethode etwas komplizierter. Die ihr zugrunde liegende Gleichung würde lauten:

$$QTP_1 - \ln(V_1 - v_1) P_1 = QTP_2 - \ln(v_2 - V_2) P_2. \quad (8a)$$

Da in der Zelle außer Wasser (v_2) und dem zu prüfenden Stoff (v_1) noch andere gelöste Stoffe vorkommen, ist in der Regel $v_1 + v_2 \neq 1$ und auch nicht ~ 1 . Falls die Außenlösung ein Mehrstoffgemisch ist, gilt auch für $V_1 + V_2 \neq 1$. In (8a) heben sich daher $V_1 - v_1$ gegen $v_2 - V_2$ nicht heraus, und das hat dann zur Folge, daß die Plasmolysezeit konzentrationsabhängig wird.

¹ Laut brieflicher Mitteilung von Prof. COLLANDER betrug bei dem erwähnten Versuche T für 2 Mol CH_3OH weniger als 30 Sekunden, für 4 Mol CH_3OH lag T dagegen zwischen 15 und 45 Sekunden!

Eine zweite Schwierigkeit ergibt sich daraus, daß die Oberflächenentwicklung Q einer plasmolysierenden Zelle eine Funktion der Zeit ist. Bei unseren bisherigen Betrachtungen durften wir annehmen, daß Q in erster Näherung konstant bleibe. Für Plasmolyseversuche muß jedoch der Veränderlichkeit von Q Rechnung getragen werden.

Für eine kugelige Zelle beträgt $Q=3/r$; da nun r zufolge des Stoffeintritts wächst und wegen des Wasseraustritts zugleich schwindet, ergibt sich für

$$Q=f(y) = \frac{3}{r(\sqrt[3]{1+y_1} + \sqrt[3]{1-y_2} - 1)}.$$

Da bei der Plasmolyse der Stoffeintritt viel kleiner ist als der Wasseraustritt, soll in erster Näherung $y_1 \sim 0$ gesetzt werden. Dann ergibt sich für (4)

$$\frac{dy_2}{dt} = \frac{3P_2(V_2 - y_2)}{r\sqrt{1-y_2}}. \quad (4a)$$

Diese Gleichung ist integrierbar¹. Es ergibt sich jedoch ein so komplizierter Ausdruck, daß nicht leicht mit ihm gearbeitet werden kann.

Günstiger liegen die Verhältnisse für zylindrische Zellen. Für jene beträgt die Oberflächenentwicklung unter Vernachlässigung der Endflächen $Q=2/r$. Sie ist somit unabhängig von der Länge der Zelle. Wenn sich also der Protoplast zusammenzieht, bleibt seine Oberflächenentwicklung konstant, solange seine Endflächen im Vergleich zum Zylindermantel klein bleiben. Ferner läßt sich die Volumänderung, wie dies von plasmometrischen Messungen nach HÖFLER² bekannt ist, bequem verfolgen und so die Plasmolysezeit T bestimmen.

Es sollte daher möglich sein, die in der Literatur fehlenden Wasserpermeationskonstanten mit Hilfe von Plasmolyseversuchen an geeignet geformten (langzylindrischen) Zellen nach der mitgeteilten Formel (4) bzw. (4a) zu bestimmen. Um von der Semipermeabilität des Protoplasmas ein richtiges Bild zu erhalten, sollte ein größeres Zahlenmaterial von P_2 -Werten gesammelt und mit den bekannten P_1 -Werten verglichen werden.

Summary

The permeability of cells to dissolved molecules is given by the permeation constant of COLLANDER ($\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$), whilst the permeability to water is measured by a filter constant ($\text{cm} \cdot \text{Atm}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Therefore these constants are not comparable, and it is impossible to calculate quantitative data on the semipermeability of a cell.

In this paper the permeation process is considered as a counterdiffusion of dissolved molecules into the cell and water out of the cell. From the two resulting diffusion equations formulae and a graphic method are derived, which permit to calculate the permeation constant of water, when the permeation constant of a given substance entering the cell is known. These constants are comparable and their ratio is a conclusive measure of the semipermeability.

¹ Für mathematische Beratung bin ich Herrn Kollege Prof. KOLLROS, ETH. Zürich, zu Dank verpflichtet.

² K. HÖFLER, Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode, Ber. dtsch. bot. Ges. 36, 414 (1918).