

Über die submikroskopische Struktur der Kernmembran bei *Amoeba proteus*¹

Der Zellkern von *Amoeba proteus* scheint, ähnlich den Zellkernen mehrzelliger Tiere, während der Interphase Stoffe an das Zytoplasma abzugeben². Diese Stoffe haben die Kernmembran zu passieren. Deshalb erschien es uns von Interesse, den submikroskopischen Bau dieser Membran mit dem Elektronenmikroskop zu analysieren. Die Technik war gegeben, da wir bereits in früheren Untersuchungen³ die Struktur anderer Zellkonstituenten von *Amoeba* elektronenmikroskopisch untersucht hatten: 1. Fixierung der Amöben in verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten (Alkohol, Formol, Osmiumsäure, Pikrinsäure, Schwermetallsalze); 2. Isolierung der Kerne mit Glasnadeln unter dem Binokularmikroskop; 3. Mechanische Fragmentierung der Kerne; 4. Transport eines Tropfens der Fragmentsuspension auf die Folie des EM.-Objekträgers.

CALLAN und TOMLIN⁴ haben zum ersten Male für die Membran der Ovozytenkerne von *Triturus* und *Xenopus* festgestellt, daß sie eine charakteristische Porenstruktur besitzen. Diese Poren befinden sich in einer gegen das Zytoplasma gelegenen Schicht der Membran, während eine innere Schicht aus einer kontinuierlichen Proteinfolie zu bestehen scheint. In gleicher Richtung wiesen die Befunde von BAUD⁵ an den Kernen der Rattenleber.

Die Kernmembran von *Amoeba* läßt ähnliche Strukturprinzipien erkennen: es findet sich eine porentragende Schicht und eine kontinuierliche Schicht. Die Membran als Ganzes ist sehr dicht und gibt nur an den Stellen, wo die Poren liegen, ein Transparenzbild. Da aber die kontinuierliche Schicht zart ist und leicht von der derberen und gegen Fixierer sehr resistenten Porenschicht abgetrennt werden kann, ist es möglich, die Porenschicht für sich allein zu untersuchen.

Die Porenschicht ist, wie die Abbildungen 1 und 2 zeigen, ein regelmäßig gebautes Gebilde mit Wabenstruktur; der Durchmesser einer einzelnen Wabe oder Pore beträgt auf Grund von rund 500 Einzelmessungen, die an mehreren Photos von verschiedenen fixierten Präparaten vorgenommen wurden, etwa 1200 Å. Die Dicke der Porenwand beträgt bei Poren, deren Mittelpunkte etwa 1500 Å voneinander entfernt sind, rund 300 Å. Der maximale Poredurchmesser wurde bei 2200 Å, der minimale bei 900 Å gefunden. In den großen Poren traten häufig Septen auf, die das große Lumen in 2, 3 oder 4 sekundäre Poren unterteilten. Diese Sekundärporen hatten ungefähr einen Durchmesser von 400 Å. Beschattete Präparate zeigten, daß die Poren in einen Raum von einiger Tiefe führen. Die Gesamtdicke der Kernmembran dürfte 2000 Å überschreiten, die Tiefe der Porenräume schätzungsweise das Doppelte des Poredurchmessers betragen.

Das hier gegebene Bild der Porenschicht findet sich mit großer Konstanz auch nach recht verschiedenartiger Fixierung (insbesondere auch nach Fixierung in Alkohol oder mit sauren Gemischen). So ist es kaum möglich, ein osmiumfixiertes von einem mit Bouins Gemisch behandelten Fragment zu unterscheiden. Da die lipoidlösenden

Fixierer die Struktur der Porenschicht nur wenig verändern, ist zu schließen, daß die Hauptelemente der Porenschicht nicht lipoider Natur sind.

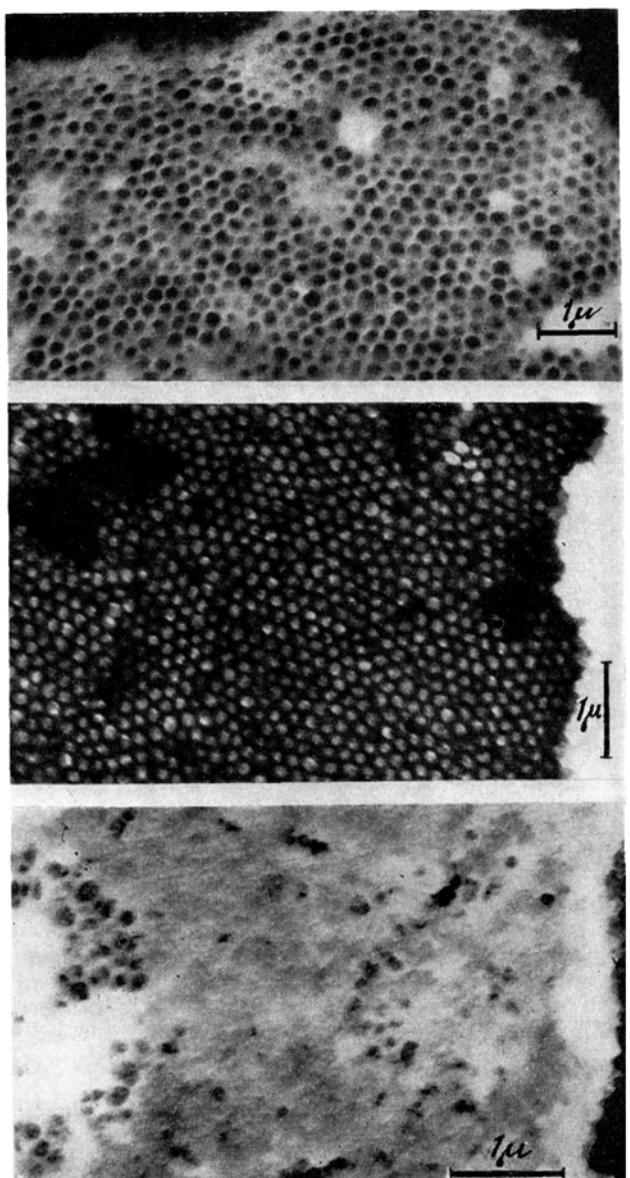


Abb. 1. *Amoeba proteus*. Kernmembran. Elektronenmikroskopische Übersichtsbilder.

A Fixiert in Zenker (Bichromat-Sublimat): Isolierte Porenschicht. Beschattet mit Gold-Manganin.

B Fixiert im Gemisch nach RABL (Pikrinsäure-Sublimat): Transparenzbild beider Schichten.

C Fixiert wie B: Aufsicht auf die kontinuierliche Schicht; wo diese an einigen Stellen fehlt, sind die daruntergelegenen Poren zu sehen. Beschattet.

Die kontinuierliche Schicht (Abb. 1C, 2A und 2B) ist viel dünner als die Porenschicht und bietet bei Beschattung ein ähnliches Bild wie das Plasmalemma: sie scheint aus dicht gepackten globulären Partikeln zu bestehen. Wenn die kontinuierliche Schicht der Porenschicht fest aufliegt, sind die Poren nur dort deutlich, wo ein Stück der kontinuierlichen Membran fehlt. Die kontinuierliche Schicht reagiert anders auf Fixierung als die Porenschicht. Sehr gut wird sie in pikrinsäurehaltigen Ge-

¹ Ausgeführt mit Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes und mit einem Trüb-Täuber-Elektronenmikroskop (EM.) der Abteilung für Elektronenmikroskopie des Chemischen Instituts.

² A. BRACHET, Exper. 6, 294 (1950).

³ A. BIRATI und F. E. LEHMANN, Rev. suisse Zool. 58, 445 (1951); Pubbl. Staz. Zool. Napoli, im Druck (1952).

⁴ H. CALLAN und S. TOMLIN, Proc. Roy. Soc. B. 137, 367 (1950).

⁵ CH. BAUD, Bull. Histol. Appl. 3, 41 (1950).

mischen fixiert (Abb. 1C); auch nach Osmierung ist sie gut erhalten, löst sich aber bei der weiteren Präparation leicht von der Poreschicht ab. Nach der Fixierung in

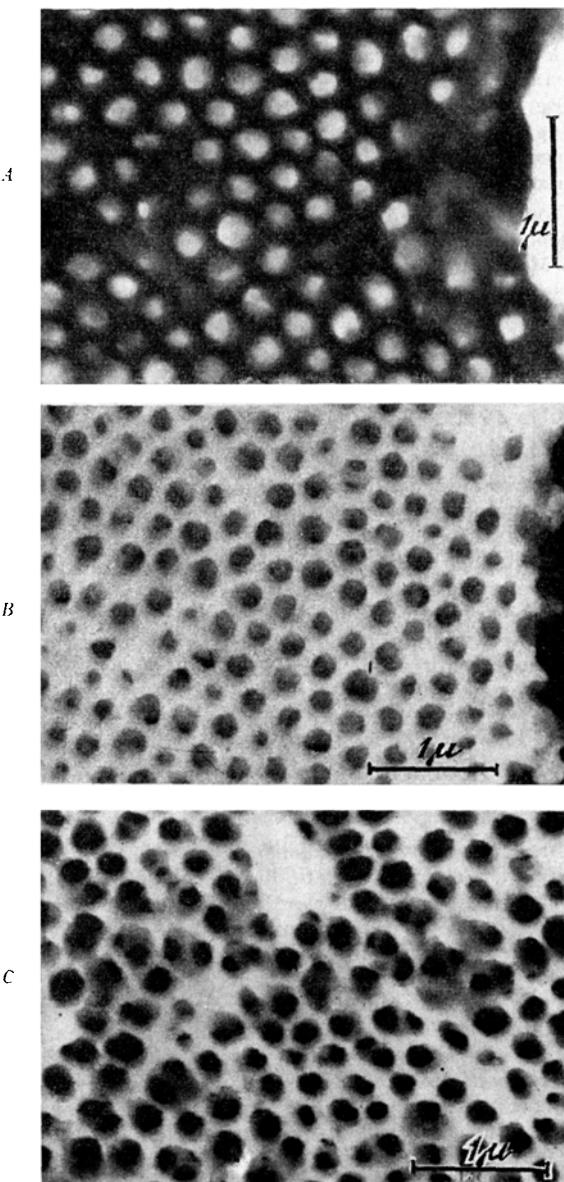


Abb. 2. *Amoeba proteus*. Elektronenmikroskopische Detailbilder der Kernmembran.

A Fixiert in Bouins Gemisch (Formol, Essigsäure, Pikrinsäure). Transparenzbild, das die darunterliegende kontinuierliche Schicht erkennen läßt.

B Dasselbe Präparat wie A nach Umkopierung.

C Fixiert in Bouins Gemisch: Stück der Poreschicht allein. Be- schattet mit Gold-Manganin.

Zenkers Gemisch und ebenfalls nach Behandlung mit Alkohol verschwindet die Bedeckung der Poren durch die kontinuierliche Membran zum größten Teil, während die Porenstruktur kaum verändert erscheint. Somit ist anzunehmen, daß die kontinuierliche Schicht eine andere chemische Zusammensetzung hat als die Poreschicht.

Es war bis jetzt nicht möglich, zu entscheiden, welche Schicht der Kernmembran dem Zytoplasma zugewandt ist: die Poreschicht (wie im Falle von *Xenopus* und *Triturus* nach CALLAN und TOMLIN) oder die kontinuier-

liche Schicht. Hier könnte die Untersuchung elektronenmikroskopischer Schnitte weiter führen.

Über den Kerninhalt, der sehr schwer zu fragmentieren ist, können wir nur aussagen, daß in kleineren Fragmenten fädige Retikula auftreten, denen kleinere globuläre Gebilde eingelagert sind. Die Struktur der derbaren Fragmente ist nicht erkennbar (Abb. 3).

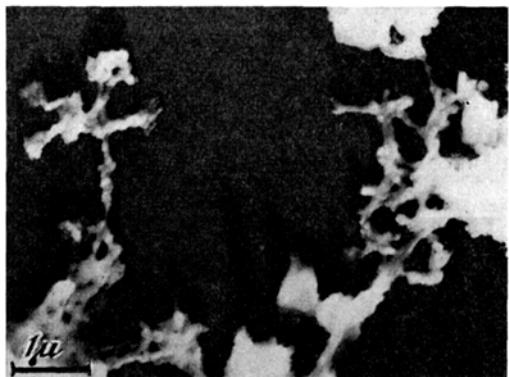


Abb. 3. *Amoeba proteus*. Kerninhalt, fixiert in Zenker (Essigsäure Bichromat, Sublimat).

Vergleichen wir unsere Befunde mit denen von CALLAN und TOMLIN, so finden wir, daß die Poren bei den Oozyten etwa 300 Å Durchmesser haben und durch eine breite Balkenschicht voneinander getrennt sind, bei der Amöbe dagegen sind die Poren größer, die Balken entsprechend schmäler. Während die Poreschicht bei den Oozyten lipoidreich sein dürfte, erscheint sie als lipoidarm bei der Amöbe. Umgekehrt ist die kontinuierliche Membran der Amöbe vermutlich lipoidreich, während die kontinuierliche Membran bei den Oozyten sich lipoidarm verhält. Wir sind uns bewußt, daß Kernstrukturen von systematisch weit auseinanderliegenden Formen nur mit Vorbehalt verglichen werden dürfen. Immerhin erscheint es uns als sehr bemerkenswert, daß wir bei der Amöbe ebenfalls eine zweischichtige Membran nachweisen konnten, die, wie bei den Oozyten von *Xenopus* und *Triturus*, aus einer Poren- und einer kontinuierlichen Schicht aufgebaut ist. Da es sich bei beiden Formen um sehr große Zellkerne handelt, wäre es möglich, daß die Poreschicht vor allem mechanische Trägerfunktionen besitzt, während die kontinuierliche Schicht die Permeabilität regulieren dürfte.

A. BAIRATI¹ und F. E. LEHMANN

Theodor-Kocher-Institut und Abteilung für Zoophysiologie des Zoologischen Instituts der Universität Bern, den 7. November 1951.

Summary

The nuclear membrane of *Amoeba proteus* appears in electron microscopical preparations to be composed of two layers, one porous containing pores of about 1200 Å diameter, the other one representing a continuous membrane of densely packed very small globular particles. The layer containing the pores is in contrast to the continuous layer very resistant to mechanical actions and to different fixing fluids and seems to contain rather few lipoids. The materials from the inner regions of the nucleus are difficult to fragment. Small fragments show filamentous reticula with small globular bodies.

¹ Bari, Istituto di Anatomia, zur Zeit Gast des Theodor-Kocher-Instituts in Bern.