

Struktur und Funktion der Zelle

Peter Nick

Inhaltsverzeichnis

- 1.1 Zellbiologie – Konzepte und Methoden – 4**
 - 1.1.1 Einheit in Vielfalt – die Zelltheorie – 4
 - 1.1.2 Zugang zur Mikrowelt – Lichtmikroskopie – 6
 - 1.1.3 Zugang zur Nanowelt – Elektronenmikroskopie – 8
 - 1.1.4 Zugang zur Molekühlwelt – biochemische Methoden – 10
 - 1.1.5 Zugang zur Dynamik – Fluoreszenzmikroskopie und GFP-Technologie – 11
 - 1.1.6 Methoden formen und begrenzen unser Bild von der Zelle – 13
 - 1.2 Die Pflanzenzelle – 14**
 - 1.2.1 Übersicht – 14
 - 1.2.2 Cytoplasma – Ort des Stoffwechsels – 18
 - 1.2.3 Cytoskelett – Werkzeug für Bewegung und Strukturierung – 19
 - 1.2.4 Zellkern – Werkzeug für Vererbung und Steuerung – 27
 - 1.2.5 Ribosomen – Werkzeuge der Proteinbiosynthese – 44
 - 1.2.6 Plasmamembran – Werkzeug der Integrität – 47
 - 1.2.7 Endomembransystem – Werkzeug der Kompartimentierung – 50
 - 1.2.8 Zellwand – Werkzeug der Morphogenese – 62
 - 1.2.9 Plastiden – Werkzeuge der Photosynthese – 76
 - 1.2.10 Mitochondrien, Peroxisomen, Oleosomen – Werkzeuge der Energiewandlung – 83
 - 1.3 Evolutionäre Entstehung der Pflanzenzelle – 89**
 - 1.3.1 Von präbiotischen Molekülen bis zur ersten Zelle – 89
 - 1.3.2 Symbiogenese ermöglicht die Entstehung der modernen Zelle – 94
 - 1.3.3 Domestizierung von Cyanobakterien und die erste Pflanzenzelle – 95
- Quellenverzeichnis – 98**

Nick, P. 2021 Struktur und Funktion der Zelle. In: Kadereit JW, Körner C, Nick P, Sonnewald U. Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften. Springer Berlin Heidelberg, p. 3–98.

► https://doi.org/10.1007/978-3-662-61943-8_1

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2021
J. W. Kadereit et al., *Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften*,
https://doi.org/10.1007/978-3-662-61943-8_1

1.1 Zellbiologie – Konzepte und Methoden

Woher kommt „Leben“? Diese Frage beschäftigt die Menschen seit Jahrtausenden. Viele Religionen leiteten „Leben“ von einem göttlichen Schöpfungsakt ab. In einem ersten Versuch, „Leben“ auf rationale Weise zu erklären, schlug Aristoteles (384–322 v. Chr.) vor, dass „Leben“ von selbst aus Unbelebtem entstehe (**Theorie der Urzeugung** oder **Abiogenese**). Auch wenn manche seiner Aussagen, wie etwa jene, dass aus Exkrementen nach einiger Zeit durch Urzeugung Insekten entstehen, uns heute schmunzeln lassen, war die Idee der Urzeugung bis zu ihrer experimentellen Widerlegung durch Redi (1668) der einzige Versuch, die Entstehung von „Leben“ ohne Zuhilfenahme göttlicher Kräfte zu verstehen. „Leben“ war hier eher etwas wie ein physikalisches „Feld“, das sich unter geeigneten Bedingungen in „Lebensformen“ manifestierte, ähnlich wie ein Magnetfeld sichtbar wird, wenn man Eisenfeilspäne ausstreut.

Die Erkenntnis, dass alle Lebensformen in Zellen organisiert sind und dass diese Zellen nur aus ihresgleichen hervorgehen, steht der Vorstellung von „Leben“ als „Feld“ diametral entgegen. Von ihren ersten Anfängen an war **Zellbiologie** daher weit mehr als nur die Beobachtung und Beschreibung von Zellen, auch wenn sie bisweilen auf diese Weise missverstanden wird. Von ihren ersten Anfängen an geht es darum, zu verstehen, wie Zellen in der Lage sind, die ganzen, unglaublich vielgestaltigen Erscheinungen von „Leben“ hervorzubringen. Die **Bedeutung der Zellbiologie** lag und liegt darin, dass sie die Biologie auf eine allgemeine konzeptionelle Grundlage stellt. Während über Jahrhunderte hinweg die Verschiedenheit der Lebensformen und deren Beschreibung im Mittelpunkt standen, gelang es in der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts Gemeinsamkeiten zu finden, die bei aller Verschiedenheit für alle Lebensformen gültig sind. Diese eindrucksvolle Leistung der Zellbiologie war die Voraussetzung dafür, dass sich ab Mitte des vergangenen Jahrhunderts die Molekularbiologie entwickeln konnte.

Wie aber gelang dieser große Wurf, die Mannigfaltigkeit des Lebendigen auf eine gemeinsame konzeptionelle Grundlage, die Zelltheorie, zu stellen?

1.1.1 Einheit in Vielfalt – die Zelltheorie

Die **Entwicklung der zellbiologischen Forschung** zeigt eindrucksvoll, wie naturwissenschaftlicher Fortschritt von den methodischen Möglichkeiten, aber auch von theoretischen Überlegungen abhängt. Die Zelltheorie geht auf zwei parallele Forschungslinien zurück, die zunächst gar nicht miteinander verbunden waren:

Die erste Linie war die Entdeckung der Zelle durch Hooke (1665) und zunächst einmal eine von den Zeitgenossen als kurios empfundene Beschreibung. Von seinem älteren Kollegen Sir Christopher Wren hatte er den königlichen Auftrag übernommen zu erkunden, was man mit diesem vor Kurzem in Holland neu erfundenen Gerät namens Mikroskop so alles anstellen könne. Hooke machte sich erst einmal daran, dieses Gerät hinsichtlich Beleuchtung, Winkel und Distanz zu optimieren, bevor er alle möglichen und unmöglichen Dinge damit betrachtete, unter anderem eine Laus, die er an seiner Hand saugen ließ, oder eben das berühmte Stück Flaschenkork, der unter dem Mikroskop aus kleinen Waben aufgebaut schien, die durch dicke Wände voneinander getrennt waren und ihn daher an Mönchszellen in einem Kloster erinnerten. Große Fortschritte in der Präzision bei der Herstellung von Glaslinsen ermöglichten dann im 19. Jahrhundert, diesen „Zellen“ viele wichtige Details zu entlocken. Nach der Wiederentdeckung der ursprünglich von Gregor Mendel erkannten Vererbungsregeln zu Beginn des 20. Jahrhunderts verlagerte sich der Forschungsschwerpunkt für vier Jahrzehnte auf Zellkern und Chromosomen (Karyologie, Cytogenetik). Vor 1950, noch bevor die modernen Methoden der Zellforschung etabliert waren, wurde die Zellbiologie als **Cytologie** bezeichnet (griech. *kýtos*, Blase, Zelle) und war weitgehend auf die Lichtmikroskopie von Zellen beschränkt. Nach Ende des Zweiten Weltkriegs setzte eine methodische Neuentwicklung ein: Elektronenmikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie, Zellfraktionierung und Röntgenstrukturanalyse von Biomakromolekülen ergänzten die eher beschreibend vorgehende Cytologie zu einer neuen Form von Wissenschaft, der modernen Zellbiologie, die sich nicht damit begnügte, Phänomene zu beschreiben, sondern diese auch zu erklären.

Methodische Fortschritte allein führen jedoch nicht zu neuer Erkenntnis, wenn sie nicht von Fragen und theoretischen Überlegungen begleitet werden. Solche Überlegungen bilden die zweite Forschungslinie. Redi (1668) hatte bereits gezeigt, dass die von Aristoteles behauptete Abiogenese nicht stattfindet, indem er Substrat wie Exkremente oder Fleisch mit einem Glassturz abdeckte und sich darunter keine Fliegen entwickelten. Er schloss daraus, dass alles Leben aus einem Ei stammt. Dennoch führte die mikroskopische Entdeckung von Einzellern (sog. Infusorien oder Aufgusstierchen) noch einmal zu einer Renaissance der Abiogenesetheorie. Spallanzani (1768) und Louis Pasteur (1861) widerlegten dann endgültig die Idee einer spontanen Entstehung von Leben, als sie zeigten, dass eine abgekochte Fleischbrühe keine Infusorien bildete, wenn sie die Verbindung zur Außen-

luft unterbrechen. Auch Mikroorganismen stammen also von anderen lebenden Organismen ab und entstehen nicht neu.

Die uns heute offensichtliche Schlussfolgerung, dass Zellen nur von anderen Zellen abstammen können, „*omnis cellula e cellula*“ (Rudolf Virchow 1855), lag dagegen zunächst noch nicht auf der Hand. Zwar hatte der Botaniker Matthias Schleiden gemeinsam mit dem Zoologen Theodor Schwann schon erkannt, dass die Zellen von Tieren und Pflanzen viele Gemeinsamkeiten aufweisen, was Schleiden (1838) für die Pflanzen, Schwann dann ein Jahr später in seiner epochalen Schrift *Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Thiere und Pflanzen* auf allgemeiner Ebene formulierte. Jedoch waren beide noch der Ansicht, dass Zellen aus unstrukturiertem Material, teilweise im Inneren anderer Zellen, entstehen. Gleichwohl kamen sie zum Schluss, dass die Zelle der eigentliche Elementarorganismus des Lebens sei.

Durch die Verbindung der sich schnell entwickelnden Mikroskopie mit physiologischen Untersuchungen (wie etwa zur Osmose) kristallisierten sich dann in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts die **Hauptsätze der Zelltheorie** immer deutlicher heraus, die auch heute noch gültig sind:

- Alle Lebewesen sind zellulär organisiert.
- Zellen entstehen nur aus Zellen.
- Viele Organismen sind während ihrer ganzen Lebenszeit einzellig. Hier ist die Aussage der Zelltheorie also offensichtlich. Aber auch bei Vielzellern beginnt der Lebenszyklus immer mit einem einzelligen Stadium.
- Zellen enthalten alles, was zur Bildung des Lebewesens notwendig ist (**Autonomie**).

Der experimentelle Beweis des letzten Hauptsatzes wurde für Pflanzen freilich erst über ein Jahrhundert später erbracht. Zwar war es **Gottlieb Haberlandt** schon 1898 gelungen, isolierte Pflanzenzellen unter sterilen Bedingungen in Kultur am Leben zu erhalten und einige Funktionen wie Zellwachstum und Stärkebildung zu beobachten, aber erst nach Entdeckung der Pflanzenhormone (Auxine, Cytokinine) konnten diese Zellen ab der Mitte des vergangenen Jahrhunderts zur Teilung angeregt und schließlich zur Regeneration eines ganzen pflanzlichen Organismus gebracht werden. Für Tierzellen dauerte dieser Weg sogar noch länger: Obwohl Ross Granville Harrison schon 1907 Tierzellen erfolgreich kultivierte, dauerte es bis 1962, bis **John Gurdon** (der dafür 2012 mit dem Nobelpreis geehrt wurde) beweisen konnte, dass auch Tierzellen „alles enthalten, was zur Bildung des Lebewesens notwendig ist“. Aus einer Darmepithelzelle des Krallenfroschs entnahm er den Zellkern und brachte ihn in eine zuvor kernlos gemachte Eizelle ein, wodurch ein Klon (also eine genetisch identische Kopie) des Spenderfroschs entstand. Gurdon musste also immer noch den Umweg über die Eizelle gehen. Erst im ersten Jahrzehnt dieses Jahrtausends fand dann **Shinya Yamanaka** (der sich den Nobelpreis 2012 mit Gurdon teilte) einen Weg, durch genetische Transformation von Körperzellen mit Genen für vier Transkriptionsfaktoren eine **induzierte pluri-**

potente Stammzelle zu erzeugen, die in der Lage war, ähnlich wie eine Eizelle, andere Zelltypen hervorzubringen. Damit war die grundsätzliche Autonomie der Zelle auch für Tiere bewiesen (etwa ein halbes Jahrhundert später als für Pflanzen).

Viele Organismen sind **Einzeller**. Individuum und Zelle entsprechen sich hier also. Das gilt für die meisten Prokaryoten und auch für viele ursprüngliche Formen der Eukaryoten. Zu diesen sogenannten Protisten gehören die begeißelten Formen aus den unterschiedlichen Algengruppen, aber auch die Kieselalgen. Für Einzeller ist der letzte Hauptsatz der Zelltheorie unmittelbar sichtbar: Ist ein Organismus autonom, muss dies zwangsläufig auch für die Zelle gelten, die mit diesem Organismus identisch ist.

Die meisten Eukaryoten sind allerdings **Vielzeller**. Da Zellen in den allermeisten Fällen mikroskopisch klein sind, werden hier oft unvorstellbar hohe Zellzahlen erreicht. Ein Baum kann mehr als 10.000 Mrd. Zellen enthalten. Schon ein Laubblatt mittlerer Größe ist aus etwa 20 Mio. Zellen aufgebaut. Unter diesen Bedingungen ist die Autonomie der einzelnen Zelle nicht mehr so klar und bedingungslos erkennbar wie im Falle der erdgeschichtlich älteren Einzeller.

Dennoch sind auch bei Vielzellern wesentliche Lebensprozesse auf dem Niveau der einzelnen Zelle erhalten geblieben. Das gilt vor allem für die Speicherung, Vermehrung, Ausprägung und Rekombination der genetischen Information. Fast jede Körperzelle enthält einen Zellkern mit der kompletten, meist sogar zweifach (diploid) vorhandenen Gen- bzw. Chromosomenausstattung. Die Zelle kann diesen Genbestand durch Replikation der DNA verdoppeln und zu identischen Teilen an Tochterzellen weitergeben (**Mitose**, ▶ Abschn. 1.2.4.5). Die Körperzellen eines Vielzelllers verfügen daher in der Regel alle über denselben Genbestand, sie gehören einem Zellklon an. Dennoch werden die Zellen in gesetzmäßiger Weise während der Entwicklung eines Individuums (**Ontogenese**) unterschiedlich und üben auch unterschiedliche Funktionen aus. Diese **Zelldifferenzierung** scheint der Behauptung zu widersprechen, dass alle Zellen eines Vielzelllers den gleichen Genbestand haben. Daher war der experimentelle Beweis des letzten Hauptsatzes der Zelltheorie so wichtig – damit konnte nämlich gezeigt werden, dass auch eine differenzierte Zelle noch über alle Gene verfügt. Die Differenzierung kommt daher, dass nur ein (für jede Zelle unterschiedlicher) Teil dieser Gene aktiv wird. Wie diese **differenzielle Genexpression** in Raum und Zeit gesteuert wird, gehört zu den wichtigsten Fragen der **Entwicklungsbiologie**. Aber auch hier gilt, dass die steuernden Signale (soweit sie nicht aus der Umwelt kommen) im vielzelligen System letztlich wieder von Zellen ausgehen und von anderen Zellen

beantwortet werden. Ein wirkliches Verständnis der Entwicklung ist also nur auf der Grundlage der Zellbiologie möglich. Auch Vererbung und sexuelle Fortpflanzung können auch bei Vielzellern nicht anders als an einzelnen Zellen ablaufen. Dazu werden in der Regel besondere **Keimzellen (Gameten)** gebildet, die dann miteinander verschmelzen (► Abschn. 1.2.4.7, 1.2.4.8 und 1.2.4.9).

Zellen sind also für die Biologie das, was Atome für die Chemie sind. Die Zelle ist gleichsam ein **Elementarorganismus**.

1.1.2 Zugang zur Mikrowelt – Lichtmikroskopie

Um 1880 konnte mit technologischen Fortschritten der mikroskopischen Optik und der Glasbearbeitung durch Ernst Abbe erstmals die theoretische **Auflösungsgrenze** erreicht werden. Zugleich hatte sich die Präparationstechnik entscheidend weiterentwickelt. Bis 1900 waren alle im Lichtmikroskop überhaupt sichtbaren Zellorganellen beschrieben (■ Abb. 1.1). Viele der damals angefertigten Zeichnungen haben bis heute ihre Gültigkeit behalten, was in der Biologie nicht eben häufig vorkommt. Das liegt daran, dass die Auflösungsgrenze physikalisch bedingt ist und daher auch in den etwa 120 Jahren, die seither vergangen sind, in lebenden Zellen nach wie vor nur die Mikrowelt beobachtet werden kann. Vor allem jedoch ist es Intuition, geschulter Beobachtung und Wissenschaftlichkeit der Forschenden zuzuschreiben, dass die von ihnen hervorgebrachten **Modelle der Zelle** auch heute noch Bestand haben – wohlgeachtet: Eine Zeichnung ist weit mehr als eine möglichst fotografische Wiedergabe, sondern immer auch eine Deutung dessen, was man unter dem Mikroskop sieht. Auch im Zeitalter der Digitalisierung sind Zeichnungen daher wichtige Elemente der zellbiologischen Forschung. Nur wenn man etwas zeichnen kann, hat man es wirklich begriffen.

Die Erschließung der Mikrowelt durch die Lichtmikroskopie wird durch zwei Faktoren physikalischer Natur begrenzt.

Die eine Limitierung ist die **Auflösungsgrenze** d . Sie hängt von der Wellenlänge des sichtbaren Lichts ab. Zwei Punkte lassen sich auflösen, wenn man sie noch als getrennt erkennen kann. Diese Auflösungsgrenze lässt sich nicht über 250 nm (also 0,25 μm) hinaus verbessern. Dies hat Ernst Abbe mit seiner berühmten Formel

$$d = \lambda / \text{N.A.}, \text{ mit N.A.} = n \sin \alpha$$

ausgedrückt, wobei λ für die Wellenlänge des Lichts und N.A. für die numerische Apertur des Objektivs stehen (N.A. ist das Produkt aus

dem halben Öffnungswinkel der Linse α und dem Brechungsindex des Mediums n). Selbst unter Verwendung von Immersionsöl, mit dessen Hilfe man einen möglichst hohen Brechungsindex erreicht, kann d einen Wert von etwa 1,4 nicht überschreiten (weil α nicht größer sein kann als 90°). Die Auflösungsgrenze hängt also selbst unter technisch optimalen Bedingungen (Objektive mit großem Öffnungswinkel, Öl-immersion) vor allem von der Wellenlänge ab. Da die Wellenlänge des sichtbaren Lichts nicht kleiner als etwa 400 nm sein kann (Strahlung kleinerer Wellenlängen können wir nicht mehr als Licht wahrnehmen), lässt sich mithilfe der Gleichung von Abbe berechnen, dass Punkte, die enger als 200 nm beieinanderliegen, lichtmikroskopisch nicht mehr aufgelöst werden können.

Eine weitere Limitierung rührt daher, dass die meisten Zellstrukturen farblos sind und sich auch in ihrem Brechungsindex nur wenig voneinander unterscheiden. Sie bleiben daher oft auch dann unsichtbar, wenn ihre Dimensionen über der Auflösungsgrenze liegen. Für dieses Problem gibt es verschiedene Lösungsmöglichkeiten. In der **Histochemie** werden Farbstoffe eingesetzt, die an bestimmte Zielmoleküle in der Zelle binden und diese anfärben. So kann man Stärke mit Jod-Kaliumjodid-Lösung (Lugol'sche Lösung) anfärben, Lignin in der Zellwand mit Phloroglucin-Salzsäure, die Vakuole mit Neutralrot oder die DNA im Zellkern mit Giemsa-Lösung. Da viele dieser Farbstoffe nicht membrangängig sind, muss man die Zellen häufig fixieren (also unter Strukturhaltung abtöten). Untersuchungen lebender Zellen sind dadurch nicht möglich, was vermutlich ein Grund dafür ist, dass das Wissen um histochemische Färbungen teilweise in Vergessenheit geraten ist. Seit einigen Jahren erfahren einige dieser Methoden jedoch eine Renaissance, da vor allem die chemische Untersuchung der pflanzlichen Zellwand oder die Charakterisierung von Exkretionszellen durch eine histochemische Kartierung deutlich erleichtert wird. Hat man es mit optisch anisotropen (doppelbrechenden) Zellstrukturen wie Zellwänden, Stärkekörnern, aber auch Kernteilungsspindeln zu tun, lassen sich diese auch in lebenden Zellen durch das **Polarisationsmikroskop** darstellen und in ihrem makromolekularen Aufbau analysieren. Die zugrundeliegenden physikalischen Phänomene sind komplex, die Anwendung ist jedoch sehr einfach: Mithilfe eines Farbumschlags kann man die Ausrichtung von Makromolekülen bestimmen, obwohl diese Moleküle wesentlich kleiner sind als die Auflösungsgrenze. Betrachtet man doppelbrechende Strukturen mit Licht aus zwei senkrecht zueinander polarisierten Komponenten, werden diese Komponenten die Struktur mit unterschiedlicher Verzögerung durchlaufen. Dies kann mithilfe eines sehr dünnen Interferenzplättchens aus Gips als Farbumschlag sichtbar gemacht werden. (Das Plättchen erzeugt eine Phasenverschiebung, die zu einer roten Interferenzfarbe führt. Zur dieser addiert sich dann die Interferenz der Doppelbrechung, wodurch die leicht unterscheidbaren Farben Blau und Gelb entstehen. Der Farbumschlag hängt davon ab, wie das doppelbrechende Molekül orientiert ist.) Inzwischen gibt es mikroskopische Techniken, die selbst kleine Unterschiede im Brechungsindex biologischer Strukturen mithilfe von Interferenzphänomenen in Kontrastunterschiede oder Reliefferscheinungen umwandeln und so die Sichtbarkeit selbst kleiner Organellen in lebenden Zellen deutlich verbessern. Neben dem klassischen Phasenkontrast wird dafür vor allem der **Differenzialinterferenzkontrast (DIC)**, engl. *differential interference contrast*) eingesetzt (■ Abb. 1.1c, d).

Um diese optischen Werkzeuge nutzen zu können, muss der Strahlengang extrem präzise eingestellt werden. Dafür ist unterhalb des Objektstischs ein eigenes Linsensystem, der **Kondensator**, montiert, der in der Höhe verstellt und dessen Blende zentriert werden kann, um eine

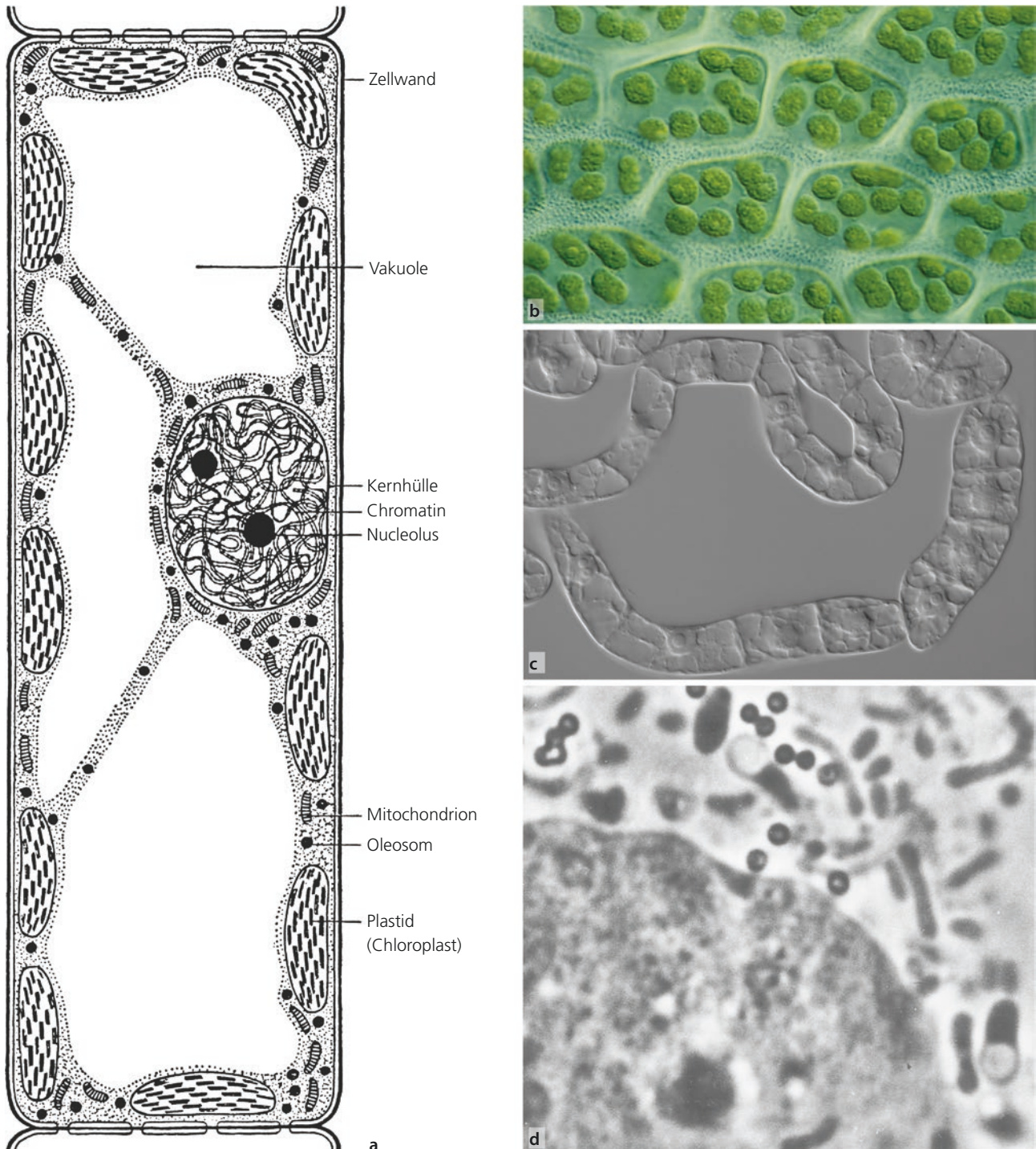
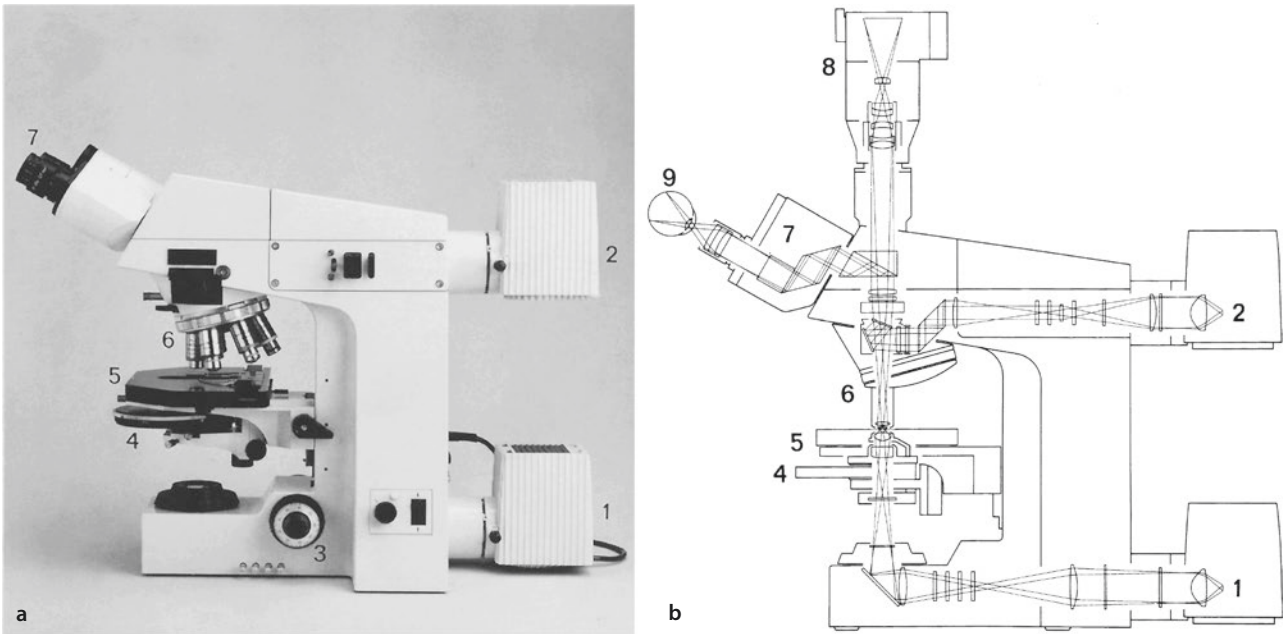


Abb. 1.1 Pflanzelle im Lichtmikroskop (LM). **a** Modell einer Zelle aus dem Assimilationsparenchym eines Laubblatts. **b** Chloroplasten in Zellen eines Blatts im Interferenzkontrast (*Catharinea undulata*, 300 ×). **c** Zellen einer Suspensionskultur (Tabak; Bright Yellow 2) (350 ×). Die großen Zellen sind fast ganz von der Zentralvakuole ausgefüllt; abhängig von der jeweiligen Phase des Zellzyklus liegt der Zellkern im wandnahen Cytoplasma oder in der Zellmitte, der Zellkern wird durch zahlreiche Cytoplasmastränge verankert, die durch die Zentralvakuole verlaufen. Durch den Einsatz des Differenzialinterferenzkontrasts tritt der Nucleolus deutlich hervor. **d** Kernbereich einer *Allium*-Zelle, Phasenkontrast (3100 ×); im Kern Chromatin und ein Nucleolus, im Cytoplasma Leukoplasten (zwei davon mit stärkeartigen, hellen Einschlüssen), wurstförmige Mitochondrien und kugelige Oleosomen. (a nach D. von Denffer; b Aufnahme: P. Sitte; c Aufnahme: J.Maisch)



▣ **Abb. 1.2** Forschungsmikroskop (Axioplan von Carl Zeiss) für die Lichtmikroskopie (LM). **a** Seitenansicht. **b** Strahlengang. – 1, 2 Leuchten für Durch- und Auflicht; 3 Mikrometerschraube zum Scharfstellen durch Heben/Senken des Objektstischs; 4 Kondensator für Hellfeldbeleuchtung, Phasenkontrast und Differenzialinterferenzkontrast (DIC); 6 Objektivrevolver, darüber Einschübe für Farb- und Polarisationsfilter unter anderem optische Zusätze; 7 binokularer Einblicktubus; 8 automatische Mikroskopkamera; 9 Auge. (Zeiss, Jena)

gleichmäßige Ausleuchtung des Beobachtungsfelds zu erzielen (▣ Abb. 1.2). Es zählt zu den Grundfertigkeiten der Lichtmikroskopie, dass man diese Einstellungen (das Köhlern) beherrscht. Die Qualität der mikroskopischen Beobachtung hängt entscheidend von der korrekten Handhabung des Mikroskops ab.

Eine fehlerhafte Einstellung des Strahlengangs hat nicht nur zur Folge, dass die Auflösung feiner Strukturen eines Präparats mißlingt, sondern kann auch Strukturen vorgaukeln, die gar nicht existieren. Man spricht von optischen **Artefakten** (lat. *ars*, Kunst, hier im Sinne von künstlich; lat. *factum*, gemacht). Gemeint sind hier nicht Kunstwerke, sondern künstlich erzeugte Beobachtungen, die ihre Ursache in methodischen Fehlern haben. An diesem Beispiel tritt ein zentrales Thema der modernen Biologie zutage – um wissenschaftlich arbeiten zu können, muss man die angewandte Methode (und deren Begrenzung) genau kennen.

1.1.3 Zugang zur Nanowelt – Elektronenmikroskopie

Wie oben bereits erwähnt, lässt sich die Auflösungsgrenze um Größenordnungen verschieben, wenn man anstelle des sichtbaren Lichts elektromagnetische Strahlung kleinerer Wellenlänge verwendet. Dieser Ansatz

wird in der Elektronenmikroskopie verfolgt und erlaubt seit etwa Mitte des vergangenen Jahrhunderts auch die Beobachtung biologischer Präparate mit einer Auflösung die im Nanometerbereich liegt ($1 \text{ nm} = 0,001 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ mm} = 10^{-9} \text{ m}$).

Im **Elektronenmikroskop (EM, ▣ Abb. 1.3)** erfolgen Beleuchtung und Abbildung der Objekte mithilfe schneller Elektronen, die in den Feldern elektromagnetischer Linsen gebrochen werden. Das vergrößerte Bild wird auf einem fluoreszierenden Leuchtschirm sichtbar gemacht und fotografisch (in der Regel digital) gespeichert. Die Wellenlänge von Elektronenstrahlen hängt von der Beschleunigung der Elektronen und damit von der angelegten Hochspannung ab. Mit $100.000 \text{ V} (= 100 \text{ kV})$ lassen sich $1/100.000$ der Wellenlänge sichtbaren Lichts erzielen, was die Auflösungsgrenze theoretisch um fünf Zehnerpotenzen verbessert. Bei biologischen Präparaten lässt sich dies nicht vollständig ausschöpfen, aber dennoch wird die Auflösung nun um zwei sehr wichtige Größenordnungen gesteigert. In Lösung gelang es sogar schon, Makromoleküle wie Myosinmotoren strukturell zu untersuchen. Es gibt bei der Elektronenmikroskopie zwei Methoden: Bei der **Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)** werden die Elektronen durch das Präparat geschickt und das Bild entsteht durch Unterschiede in der Absorption. Diese Methode ist also der Durchlichtmikro-



Abb. 1.3 Elektronenmikroskop (EM). Die Elektronenstrahlen gehen vom Strahlerzeuger (1) aus und durchlaufen im Tubus (Vertikalröhre, 5) von oben nach unten ein Kondensorenliniensystem. Dann gehen sie durch das in das Hochvakuum des Tubus eingeschleuste Objekt (Präparatschleuse, 2) mit seitlichem Dewargefäß (4) für flüssigen Stickstoff zur Objektraumkühlung ([3] motorisierte Kippvorrichtung für das Präparat), weiter durch die Felder der abbildenden elektromagnetischen Objektiv- und Projektivlinsen (in 5), bis sie schließlich auf einen fluoreszierenden Leuchtschirm treffen. Das hier erscheinende Endbild kann durch ein Einblickfenster (6) oder auf Monitoren (8) beobachtet oder digital gespeichert werden (Digitalkamera, 7). Der Restgasdruck im Tubus wird durch Hochvakuumpumpen auf Werten unter ein Millionstel des Atmosphärendrucks gehalten. (9) Computertower für Bildakquisition und -verarbeitung. Der Preis solcher Transmissionselektronenmikroskope (TEM) liegt bei mehreren 100.000 Euro. (Zeiss, Jena)

skopie vergleichbar. Bei der **Rasterelektronenmikroskopie (REM)**, engl. *scanning electron microscopy*, (SEM) werden die von der Oberfläche des Präparats gestreuten Elektronen dazu genutzt, ein sehr plastisches Reliefbild dieser Oberfläche zu erzeugen, was also der Auflichtmikroskopie entspräche.

Der Preis für die verbesserte Auflösung ist jedoch eine sehr aufwendige Präparation der Proben (► Exkurs 1.1), was besonders für die TEM zutrifft. Der letztendliche Grund liegt daran, dass Elektronen nur eine sehr schwache Durchdringungskraft haben und daher im Gegensatz zum sichtbaren Licht von Luft absorbiert werden. Man muss daher in einem extremen Vakuum arbeiten. Da unter diesen Bedingungen das in biologischen Präparaten enthaltene Wasser sofort sieden würde, müssen die Proben vollständig entwässert werden. Weiterhin müssen die Präparate extrem dünn geschnitten werden, damit die Elektronen sie durchdringen können, und die Präparate müssen mit Schwermetallsalzen angefärbt werden, um trotz ihrer geringen Dicke noch ausreichende Absorptionsunterschiede für die Bildgebung zu erreichen. Eine Darstellung von lebenden Zellen ist aufgrund dieser Behandlung natürlich unmöglich. Die Präparate müssen daher unter Strukturverlust chemisch fixiert werden. Inzwischen gilt die extrem schnelle Abkühlung (Kryofixierung) als Standard, der eine natürliche Darstellung zellulärer Struktur am besten gewährleisten kann. Doch selbst bei diesem Verfahren muss man sich vergegenwärtigen, dass das Präparat extremen Bedingungen ausgesetzt war. Um von elektronenmikroskopischen Bildern auf die Feinstruktur der Zelle schließen zu können, sind daher viel Erfahrung und auch eine kritische Betrachtung vonnöten.

Exkurs 1.1 Präparation für Elektronenmikroskopie

Um biologische Präparate mit dem Elektronenmikroskop untersuchen zu können, müssen sie zuvor sehr aufwendig präpariert werden. Dies bedeutet, dass die gewonnenen Bilder „eingefrorene“ Momentaufnahmen eines in der Wirklichkeit sehr dynamischen Geschehens sind. Die Zelle erscheint uns dadurch statischer als sie ist. Diese methodisch bedingten Limitierungen der Methodik muss man bei der Deutung von EM-Bildern also immer berücksichtigen:

Für die TEM-Untersuchung sollten Biopräparate nicht dicker als 80 nm sein, das ist weniger als 1/1000 der Dicke eines Papierblatts. Es gibt mehrere Verfahren, Präparate für das TEM herzustellen. Durchstrahlbare Partikel (Makromoleküle, Multienzymkomplexe, DNA-Stränge, Ribosomen, Viren, Cellulosefibrillen oder Membranfraktionen) werden auf dünnste Plastik- oder Kohlefolien aufgetrock-

net und direkt beobachtet. Zur Kontrasterhöhung werden häufig Schwermetalle eingelagert (Positivkontrast), angelagert (Negativkontrast) oder schräg aufgedampft (Beschattung mit Reliefeffekt). Zellen und Gewebe werden nach chemischer Fixierung durch Glutaraldehyd und Osmiumtetroxid in Hartplastik einpolymerisiert und auf **Ultramikrotomen** mit besonders geschliffenen Diamantklingen geschnitten. Alternativ kann lebendes Gewebe auch durch sehr rasche Abkühlung auf unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ kryofixiert werden, wobei das Wasser in den Zellen erstarrt, ohne zu kristallisieren. Dann wird das durchgefrorene Präparat aufgebrochen und von der Bruchfläche ein dünner Aufdampfdruck hergestellt, der dann im TEM beobachtet wird (**Gefrierbruch**, Gefrierätzung). Inzwischen lassen sich auch relativ dicke Schnitte bei Beschleunigungsspannungen zwi-

schen 300 und 700 kV durchstrahlen und Bilder entsprechender Präparatstellen bei verschiedenen, genau definierten Kippwinkeln digital speichern, wodurch dann eine dreidimensionale Darstellung des Objekts errechnet werden kann.

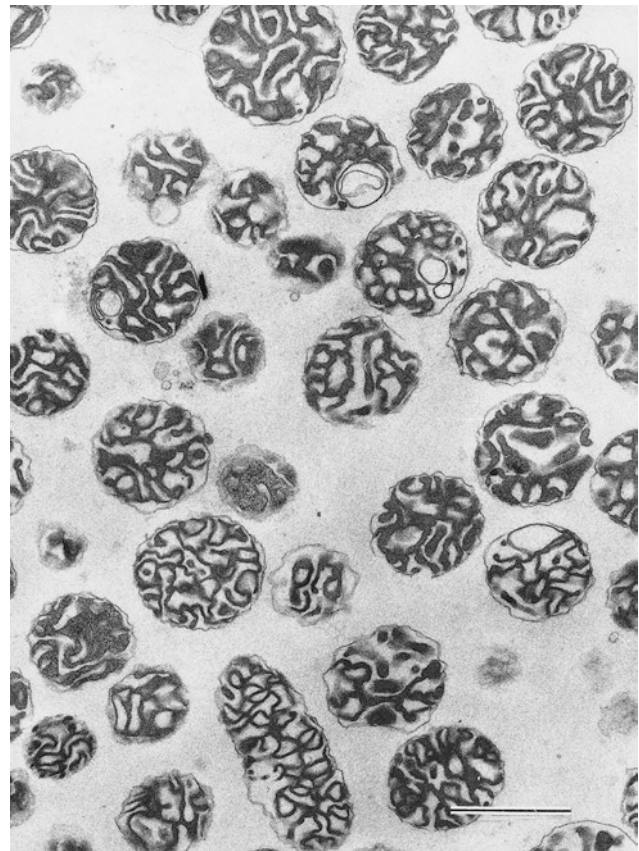
Für die REM-Untersuchung muss die Probe ebenfalls entwässert werden. Da es hier nur die Oberfläche von Interesse ist, entfällt die Ultramikrotomie und damit auch die Einbettung. Die Oberfläche muss jedoch durch Bedampfen mit Gold (das sog. Sputtern) leitfähig gemacht werden. Bei

sehr fragilen Präparaten würde die Oberflächenspannung des Wassers dazu führen, dass das Präparat beim Trocknen kollabiert. Hier wird die Kritische-Punkt-Trocknung angewandt, bei der Wasser durch eine besondere Kombination von Temperatur und Vakuum direkt vom festen in den gasförmigen Aggregatzustand übergeht (Sublimation), sodass Oberflächenspannungen der flüssigen Phase vermieden werden. Auch hier ist die Präparation sehr aufwendig und erfolgt unter Bedingungen, die von jenen in der lebenden Zelle sehr stark abweichen.

1.1.4 Zugang zur Molekülwelt – biochemische Methoden

Selbst die Möglichkeit, mit fortgeschrittener Kryoelektronenmikroskopie die Strukturen von Makromolekülen sichtbar machen zu können, erlaubt keinen unmittelbaren Zugang zur stofflichen Natur zellulärer Strukturen. Dafür müssen Zellen auf biochemischer Ebene untersucht werden. Während Zellen in der Frühzeit der Biochemie häufig als (engl.) *bag of enzymes* angesehen wurden, wurde seit den 1960er-Jahren vor allem auch durch die Arbeiten von Paul Sreere klar, dass die biochemischen Aktivitäten in Zellen und Geweben in hohem Maße geordnet und gegliedert ablaufen. Diese Erkenntnis führte zur Entwicklung von Methoden, womit sich Zellen schonend aufschließen und die Zellorganellen in möglichst intakter Form aufreinigen lassen. Wichtiges Werkzeug für diese **subzelluläre Fraktionierung** sind **Ultrazentrifugen**, mit denen man subzelluläre Partikel für biochemische oder analytische Untersuchungen aus dem Zellaufschluss abtrennen kann: Bei der **differenziellen Zentrifugation** werden zunächst grobe Zelltrümmer, aber auch Zellkerne und Plastiden, bei niedrigen Drehzahlen (<10.000 rpm; engl. *rounds per minute*, Umdrehungen pro Minute) sedimentiert. Den Überstand zentrifugiert man dann zunehmend hochtourig. Abhängig von Teilchenmasse und -größe kann man so mehr oder weniger reine Fraktionen gewinnen, die je nach Beschleunigung etwa Zellkerne, Plastiden, Mitochondrien (■ Abb. 1.4) oder Mikrosomen (Vesikel aller Art) enthalten. Der Überstand wird bei höheren Umdrehungszahlen erneut zentrifugiert. Die Zentrifugalbeschleunigung kann dabei bis zum über 100.000-Fachen der Erdbeschleunigung g ansteigen. Bei der **Dichtegradientenzentrifugation** werden die Teilchen gemäß ihrer Dichte sortiert. Hierzu wird das Zentrifugenröhrchen mit einem Gradienten von Saccharose (seltener auch CsCl) befüllt, sodass die Konzentration (und damit die Dichte) von oben nach unten zunimmt. Jedes Teilchen ordnet sich unabhängig von Größe und Masse dort in dem Gradienten an, wo die Dichte des umgebenden Mediums seiner eigenen entspricht (isopyk-

nische oder Gleichgewichtszentrifugation). In den Anfängen der molekularen Zellbiologie war die Sedimentationsgeschwindigkeit, die als **S-Zahl** (S nach Theodor Svedberg, dem Erfinder der Ultrazentrifuge) angegeben wurde, eine wichtige Größe. Die S-Zahl gibt für eine bestimmte Partikelsorte die Sedimentationsgeschwindigkeit pro Zentrifugalbeschleunigung in Svedberg-Einheiten an



■ **Abb. 1.4** Mitochondrienfraktion, gewonnen durch isopyknische Zentrifugation eines Gewebehomogenats von Spinat. Die Mitochondrienmatrix ist geschrumpft, die Kompartimentierung aber weitgehend erhalten. Verunreinigungen durch andere Zellorganellen sind vernachlässigbar gering (Maßstab 1 μm). (Präparat: B. Liedvogel; EM-Aufnahme: H. Falk)

($1 \text{ S} = 10^{-13} \text{ s}$). Besonders Ribosomen und ihre Untereinheiten werden durch ihre S-Zahlen charakterisiert.

1.1.5 Zugang zur Dynamik – Fluoreszenzmikroskopie und GFP-Technologie

Die Notwendigkeit, Zellen für die elektronenmikroskopische Präparation chemisch oder durch schnelles Gefrieren zu fixieren, macht es unmöglich, die Dynamik lebender Zellen zu beobachten. Dies führte zu einem relativ statischen Bild der Zelle. Zum Beispiel ist der Begriff des Cytoskeletts von Bildern geprägt, die Mikrotubuli oder Actinfilamente elektronenmikroskopisch als Gerüst aus Stangen oder Fäden zeigen. Wiederum waren es zwei technische Entwicklungen, die unser heutiges Bild der Zelle als ausgesprochen dynamisches System geprägt haben: **Fluoreszenzmikroskopie** und **GFP-Technologie**.

Während das Licht bei der gewöhnlichen Hellfeldlichtmikroskopie durch das Präparat geschickt wird, sodass Unterschiede in der Absorption zur Bildentstehung genutzt werden können, beruht die Fluoreszenzmikroskopie auf der Fähigkeit vieler Moleküle, Lichtenergie zunächst zu absorbieren und in einen angeregten Zustand überzugehen, von dem sie später unter Abstrahlung der aufgenommenen Energie wieder zum Grundzustand zurückkehren (**Fluoreszenz**). Da ein Teil der aufgenommenen Energie durch Abstrahlung von Wärme verlorengeht, ist das abgegebene (emittierte) Fluoreszenzlicht etwas langwelliger als das Anregungslicht (**Stokes-Shift**). Mit welcher Wellenlänge angeregt werden kann und welche Wellenlänge dann emittiert wird, hängt von den molekularen Eigenschaften des fluoreszierenden Moleküls ab und stellt eine Art Fingerabdruck des Moleküls dar. Bei der **Fluoreszenzmikroskopie** wird das Präparat im Aufsicht betrachtet – der Anregungsstrahl wird also durch das Objektiv auf das Präparat gestrahlt und das zurückgeworfene Fluoreszenzlicht durch dasselbe Objektiv betrachtet. Um zu verhindern, dass reflektiertes Anregungslicht das in der Regel schwache Fluoreszenzsignal überstrahlt, wird ein Farbteiler in den Strahlengang eingeführt. Das ist ein Filter, der Licht kurzer Wellenlänge (also das Anregungslicht) reflektiert, Licht längerer Wellenlänge (also das emittierte Fluoreszenzlicht) transmittiert. Man erhält also ein schwaches, aber sehr spezifisches Signal.

Der Einsatzbereich der Fluoreszenzmikroskopie war zunächst dadurch eingeschränkt, dass nur wenige biologische Moleküle von sich aus fluoreszieren. Beispielsweise fluoresziert das Chlorophyll nach Anregung durch

Blaulicht rot, was man zur spezifischen Darstellung von Chloroplasten nutzen kann und damit zu tun hat, dass der Porphyrinring des Chlorophylls zahlreiche konjugierte Doppelbindungen enthält, sodass das so gebildete π -Orbital durch elektromagnetische Strahlung geringer Energie leicht angeregt werden kann. Für die meisten Moleküle reicht die Energie des sichtbaren Lichts jedoch nicht aus, um eine Fluoreszenz auszulösen. Man behilft sich durch Anfärben mit **Fluorochromen** (fluoreszierende Farbstoffe). Einige Fluorochrome binden spezifisch an bestimmte zelluläre Strukturen – Propidiumiodid oder Höchst 33258 interkalieren z. B. zwischen die Nucleotidbasen der DNS und können daher zum Anfärben von Zellkernen verwendet werden. In der Regel stammt die Spezifität jedoch von anderen Molekülen, die mit dem Fluorochrom gekoppelt werden. So lassen sich mit dem actinbindenden Wirkstoff **Phalloidin** aus dem Grünen Knollenblätterpilz (*Amanita phalloides*) die Actinfilamente sichtbar machen, wenn das Phalloidin zuvor an das rot fluoreszierende Rhodamin gekoppelt wurde. Der Durchbruch der Fluoreszenzmikroskopie wurde vor allem durch die Entwicklung der **Immunfluoreszenz** stark befördert. Hierbei werden Fluorochrome an Antikörper gekoppelt, sodass sich letztlich alle Moleküle, gegen die Antikörper zur Verfügung stehen, in der Zelle oder im Gewebe (*in situ*) sichtbar machen lassen. Bei der **direkten Immunfluoreszenz** wird das Fluorochrom direkt an den Antikörper gekoppelt, der die Zielstruktur erkennen soll. Bei der häufiger eingesetzten **indirekten Immunfluoreszenz** wird hingegen ein fluoreszenzmarkierter sekundärer Antikörper verwendet, der gegen den an die Zielstruktur bindenden primären Antikörper gerichtet ist.

Die Bedeutung der Immunfluoreszenz liegt darin, dass man nicht nur strukturelle Information gewinnt, sondern gleichzeitig ein ganz bestimmtes Molekül (die Zielstruktur des Antikörpers) nachweisen kann. Die Fluoreszenzmikroskopie wird damit also zu einer Art Biochemie unter dem Mikroskop. Bei einem ähnlichen Ansatz, der Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH), wird die durch die komplementäre Basenpaarung bedingte Spezifität von fluoreszenzmarkierten Nucleotiden genutzt, um bestimmte Transkripte oder bestimmte DNA-Bereiche (z. B. interessierende aktive Gene im Gewebeschnitt) sichtbar zu machen. Diese Technik hat die früher oft eingesetzte Markierung mithilfe radioaktiver Sonden (Mikroautoradiografie) weitgehend ersetzt. Hierzu werden radioaktive Isotope (^3H oder ^{32}P für Nucleinsäuren, ^{35}S für Proteine) genutzt, um bestimmte Zielstrukturen zu markieren. In einer fotografischen Emulsion, mit der die Dünnschnitte der markierten Zellen/Gewebe überzogen wurden, treten nach entsprechend langer Dunkelexposition und Entwicklung über den Präparatstellen, die radioaktiv markierte Nucleotide enthalten, gehäuft Silberkörner auf.

Die Fluoreszenzmikroskopie erlaubte also einen Zugang zur molekularen Ebene und dies *in situ*, also im räumlichen Kontext von Zellen und Geweben. Dennoch blieb das so gewonnene Bild der Zelle noch relativ sta-

tisch, da auch hier die Präparation eine Fixierung verlangt, weil die meisten fluoreszierenden Sonden die Plasmamembran lebender Zellen nicht passieren. Erst die Entwicklung der GFP-Technologie (► Exkurs 1.2) er-

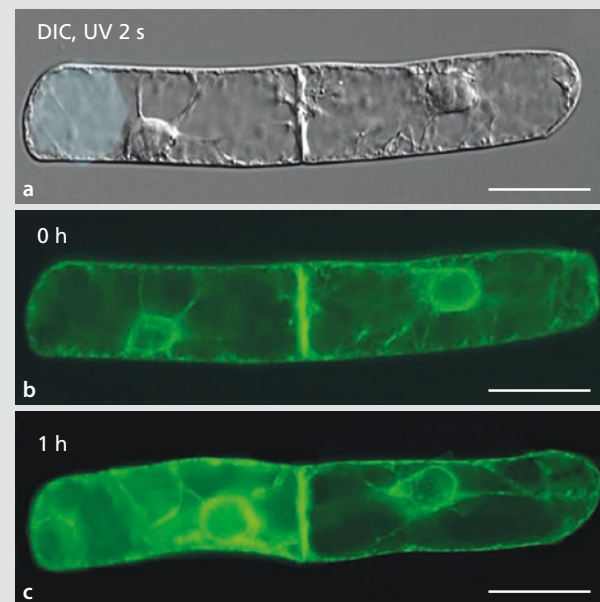
laubte es, die Zelle mithilfe der Fluoreszenzmikroskopie als dynamisches System zu erkennen. Diese Dynamik war gerade bei den statisch wirkenden Pflanzenzellen so nicht erwartet worden.

Exkurs 1.2 GFP – der Schlüssel für die Untersuchung zellulärer Dynamik

Das **grün fluoreszierende Protein (GFP)** hat sich zu einem der wichtigsten Werkzeuge für die Zellbiologie entwickelt, weil damit molekulare Dynamik in lebenden Zellen verfolgt werden kann. Im Verbund mit den Fortschritten der Fluoreszenzmikroskopie hat dies unser Bild von der Zelle entscheidend verändert. Die Bedeutung dieser Technologie wird auch dadurch unterstrichen, dass ihre Erfinder Osamu Shimomura, Martin Chalfie und Roger Tsien 2008 dafür mit dem Nobelpreis geehrt wurden. Die Untersuchung von GFP war ursprünglich durch reine Grundlagenforschung motiviert: Es ging darum, die Ursache für das von Meeresquallen der Art *Victorea aequorea* verursachte Meeresleuchten zu verstehen. Der japanische Forscher Osamu Shimomura konnte 1962 zeigen, dass hierfür zwei Proteine verantwortlich sind: In Gegenwart von Calciumionen wird **Aequorin** dazu angeregt, über eine **Chemilumineszenz** blaues Licht abzustrahlen. Dieses blaue Licht regt wiederum das **grün fluoreszierende Protein** zu einer grünlichen Fluoreszenz an. Aus dieser ursprünglich exotischen Entdeckung entwickelte sich später, als die Gensequenz von GFP aufgeklärt war, ein zentrales Werkzeug für die Beobachtung lebender Zellen und Gewebe. Die Fluoreszenz beruht darauf, dass GFP aus mehreren Aminosäuren spontan ein konjugiertes Doppelbindungssystem ausbildet, um das sich in einem zweiten Schritt eine sehr robuste β -Faltblattstruktur faltet. Das Protein benötigt daher keinen Chromophor, um zu fluoreszieren, sondern es handelt sich um ein genetisch codiertes Fluorochrom, das nun auf gentechnischem Wege in die Zelle oder den Organismus eingeführt werden kann. Hierbei gibt es zwei zentrale Anwendungen:

GFP wird als nichtinvasiver **Reporter** für die Aktivität eines Promotors von Interesse genutzt. Dazu wird die codierende Sequenz von GFP hinter den Promotor kloniert und die Zielzelle oder den Zielorganismus mit dem Konstrukt transformiert (bei Pflanzen geschieht dies z. B. mithilfe des Bakteriums *Agrobacterium tumefaciens*). Immer dann, wenn der Promotor abhängig von Zelltyp, Entwicklung oder als Reaktion auf Signale aktiviert wird, entsteht GFP und lässt sich mikroskopisch über seine grüne Fluoreszenz sichtbar machen. Hierfür ist sehr wichtig, dass GFP keinerlei toxische Wirkung hat, also selbst in hohen Konzentrationen die physiologischen Vorgänge oder die Entwicklung nicht stört. Dieses Verfahren wurde erstmals von Martin Chalfie am Fa-

denwurm *Caenorhabditis elegans* angewandt, um die Entwicklung einzelner Neuronen verfolgen zu können, die für die Wahrnehmung von Berührungseizen verantwortlich sind. Zwar gab es bereits solche Promotor-Reporter-Konstrukte, diese erforderten aber eine chemische Fixierung und Permeabilisierung, erlaubten also im Gegensatz zu GFP keine Lebendbeobachtung. Auch bei Pflanzen kann man die Präzision dieser Strategie bis auf die Ebene einzelner Zellen verfeinern (► Abb. 1.5).



► **Abb. 1.5** Nutzung des grün fluoreszierenden Proteins (GFP) als nichtinvasives Reportersystem auf der Ebene von Einzelzellen. Der durch das Pflanzenhormon Auxin (Indoleessigsäure) aktivierbare, synthetische Promotor DR5 wurde vor die codierende Sequenz von GFP kloniert und die Tabakzelllinie Bright Yellow-2 (BY-2) mithilfe von *Agrobacterium tumefaciens* stabil mit dem Konstrukt transformiert. Der Promotor wird in Gegenwart von Auxin aktiviert, sodass die durch GFP verursachte grüne Fluoreszenz zunimmt. In dem gezeigten Experiment wurde ein chemisches Derivat von Auxin (engl. *caged auxin*) appliziert, das durch eine Käfigstruktur keine Hormonaktivität besitzt. Durch einen Lichtpuls wurde der Käfig abgespalten und das Auxin aktiviert. Rechte Zelle: Nach Belichtung der Zelle wurde der DR5-Promotor stark aktiviert und die Fluoreszenz stieg eine Stunde nach Belichtung deutlich sichtbar an. Linke Zelle: Die Zelle wurde nicht belichtet. Der Grund für die schwache GFP-Fluoreszenz ist das natürlicherweise vorhandene Auxin, das zu einer basalen Promotoraktivität führt (Maßstäbe 10 μ m). (Aufnahmen: J. Maisch)

GFP kann jedoch auch dazu eingesetzt werden, die **subzelluläre Lokalisation** eines Proteins von Interesse im lebenden System (also auch in seiner Dynamik) sichtbar zu machen. Dafür wird die codierende Sequenz des Proteins mit der codierenden Sequenz für GFP fusioniert und dann unter die Kontrolle eines starken Promotors gestellt. Häufig wird dazu der 35S-Promotor des Blumenkohlmosaikvirus (engl. *cauliflower mosaic virus*) eingesetzt. Nachdem dieses Fusionskonstrukt ins Genom der Zielzelle oder des Zielorganismus eingeführt wurde, entsteht bei der Translation ein Produkt, bei dem GFP als fluoreszierende Markierung an das Protein von Interesse geheftet ist, sodass sich Verhalten und Lokalisation mittels Fluoreszenzmikroskopie in lebenden Zellen verfolgen lassen. Dieses Verfahren ermöglichte es, die große Dynamik vieler zellulärer Organellen sichtbar zu machen und sogar zu messen. Diese Dynamik ist weit größer als zuvor angenommen – beispielsweise zeigte sich das Cytoskelett nun als eine sich ständig in Wandlung befindliche Struktur; die Lebensdauer einzelner Mikrotubuli wurde auf weniger als 1 min geschätzt. Die im Elektronenmikroskop sichtbaren, gerüstartigen Bilder sind also nur Schnappschüsse eines an sich brodeln-

den Geschehens, was aber nur mithilfe der GFP-Technologie sichtbar gemacht werden kann.

Durch die Arbeiten von Roger Tsien wurden aus dem natürlich in der Qualle vorkommenden GFP zahlreiche künstliche Varianten erzeugt, die z. B. in verschiedenen Farben fluoreszieren können oder eine bessere Löslichkeit aufweisen. Da eine Aminosäure von verschiedenen Basentriplets codiert werden kann und sich die bevorzugten Triplets bei verschiedenen Organismen unterscheiden (engl. *codon usage*), wurden die Triplets für die Expression in verschiedenen Zielsystemen angepasst. Damit wurde es auch möglich, mehrere Zielproteine gleichzeitig in verschiedenen Farben zu markieren, um die dynamische Wechselwirkung von Proteinen zu verfolgen. Inzwischen sind auch neue fluoreszierende Proteine (wie mEOS) entwickelt worden, die abhängig von einer Bestrahlung ihre Farbe ändern können. Damit lässt sich nicht nur die Wanderung von Proteinen in der Zelle noch genauer verfolgen, sondern vor allem auch mithilfe neuer Technologien wie **Der photoaktivierten Lokalisationsmikroskopie (PALM)** die bis vor wenigen Jahren als unverrückbar angesehene Auflösungsgrenze um den Faktor 10 verbessern (engl. *superresolution microscopy*).

Während die GFP-Technologie einen Zugang zur Zeitlichkeit der Zelle ermöglichte, wurde die Räumlichkeit der Zelle mithilfe der Konfokalmikroskopie erschlossen. Dabei wird eine sehr enge Lochblende (engl. *pinhole*) in den Emissionsstrahlengang eingeführt, sodass nichtfokussiertes Licht ausgeblendet wird. Man erhält also ein stark abgeschwächtes, dafür aber vollkommen **konfokales** Bild, das mithilfe von Photomultiplikatoren digital amplifiziert wird. Während in der konventionellen Fluoreszenzmikroskopie Licht von den Bereichen außerhalb der Fokusebene als diffuser Hintergrund die Bildgebung stört, kann man ein Präparat mithilfe des Konfokalmikroskops optisch in Scheiben schneiden, ohne dass die Räumlichkeit des Präparats zerstört wird. Man bekommt damit Stapel konfokaler Bilder, die anschließend zu einem räumlichen Modell des Präparats zusammengesetzt werden können (**Tomographie**). Da bei diesem Verfahren sehr viel Licht herausgefiltert werden muss, wird zur Anregung der Fluoreszenz ein Laser eingesetzt, der dann die Oberfläche des Präparats zeilenweise abstrahlt (konfokale Laserrastermikroskopie, engl. *confocal laser scanning microscopy*, CLSM). Da dieses Rastern eine gewisse Zeit benötigt, was vor allem bei dynamischen Präparaten limitierend wird, wurden in den letzten Jahren andere Möglichkeiten der Anregung gesucht. Bei der *selective plane illumination*-Mikroskopie (SPIM) wird nicht ein einzelner Laserstrahl genutzt, sondern ein breites Lichtband, während bei der *spinning disc*-Mikroskopie Anre-

gung, Emission und konfokale Filterung mithilfe schnell rotierender Lochscheiben (daher der Name) erzielt wird, sodass die Oberfläche durch zahlreiche Strahlen abgetastet wird.

1.1.6 Methoden formen und begrenzen unser Bild von der Zelle

Während für die moderne Physik spätestens seit Beginn des 20. Jahrhunderts klar zutage trat, dass der Beobachter Teil des Systems ist (man denke nur an Heisenbergs Unschärferelation), wurde in der Biologie lange Zeit nur selten hinterfragt, inwiefern ihre Konzepte durch die methodische Herangehensweise begrenzt seien. So sehr Zellen als Elementarbausteine des Lebendigen angesehen werden, so groß die Rolle ist, die bereits Haeckel ihnen im Zusammenhang der Evolution zusprach, so wenig gibt es eine kanonische Definition dessen, was Zellen sind. Das Bild der Zelle als Grundeinheit des Lebens hat sich in den letzten Jahrzehnten mehrfach von Grund auf gewandelt. Dies hängt zunächst mit den Formen der Präparation zusammen, wobei Auslöser jeweils methodische Neuerungen waren, die den Schwerpunkt der Betrachtung jeweils in eine andere Richtung lenkten.

Ausgehend von Fortschritten der Biochemie erschien die Zelle zunächst als einheitlicher chemischer Reaktionsraum. Nachdem es gelungen war, typische Reaktio-

nen des Lebens mithilfe von Enzymen in wässriger Lösung nachzustellen, sah man die Zelle (und für Bakterienzellen trifft man auf diese Sichtweise noch heute) vor allem als *bag full of enzymes*. Als ab 1950 mit der Elektronenmikroskopie das Innenleben von Zellen in hoher Auflösung zugänglich wurde, traten strukturelle Aspekte in den Vordergrund – selbst für bakterielle Zellen wandelte sich das „Cytosol“ (ein Begriff, der in der Biochemie noch heute verwendet wird) zum „Cytoplasma“, die Zelle wurde zum strukturierten Raum. Dabei führte die der elektronenmikroskopischen Präparation innewohnende Statik (Präparatfixierung, Einbettung, Mikrotomie, Schwermetallbedampfung) zu einem eher strukturell-statischen Konzept der Zelle. Ob man für Mikrotubuli und Actinfilamente heute noch den Begriff „Cytoskelett“ geprägt hätte, darf bezweifelt werden. Diese statische Sichtweise wurde erst Ende der 1980er-Jahre aufgebrochen, als technologische Fortschritte der Fluoreszenzmikroskopie in Verbindung mit molekular spezifizierbaren Vitalfärbungen über fluoreszierende Proteine unser Konzept der Zelle radikal änderten: Nun zeigte sich die Zelle als strukturierte Aktivität im Raum. Dieses Konzept der Zelle hängt wiederum von experimentellen Begrenzungen ab, denn um die Dynamik der Proteine und Organellen sehen zu können, muss man zuerst Fusionskonstrukte aus der codierenden Sequenz des jeweiligen Proteins und des fluoreszierenden Proteins herstellen und das zu beobachtende System mit den Konstrukten transformieren. Wir sehen also nicht die Dynamik nativer Proteine, sondern die Dynamik der von uns generierten fluoreszierenden Fusionen. Trotz dieser (wichtigen) Begrenzung führte diese Technologie zu einem neuen Blick auf die Zelle: Sie zeigt sich nun als zeitliche Strukturierung von Aktivitäten auf den verschiedensten Ebenen. Die Zelle wird zur zeitlichen Superstruktur.

1.2 Die Pflanzenzelle

1.2.1 Übersicht

Ein Blick durch das Lichtmikroskop auf eine typische Pflanzenzelle (▣ Abb. 1.1) zeigt, dass diese nicht amorph erscheint, sondern zahlreiche innere Strukturen aufweist. Diese **Organellen** (von lat. *organellum*, kleines Gerät, daher Singular korrekt „das Organell“) sind gleichsam die Organe der Zellen, also subzelluläre Funktionseinheiten. Viele dieser Strukturen sind sehr klein, an der Grenze der Auflösung, lassen sich aber mithilfe des Elektronenmikroskops in ihrer Ultrastruktur darstellen (▣ Abb. 1.6 und 1.7). Manche dieser Organellen, sind strukturell nicht klar abgegrenzt, andere jedoch sind von durchgängigen Membranen umgeben,



▣ **Abb. 1.6** Pflanzenzelle im EM (Ultradünnschnitt, Phloemparenchymzelle der Bohne *Phaseolus vulgaris*) mit Merkmalen junger, stoffwechselaktiver Zellen (mehrere kleine Vakuolen, viele Ribosomen/Polysomen), aber auch mit Chloroplasten, Mitochondrien und Peroxisomen. Der Kern liegt außerhalb der Schnittebene; Pfeilköpfe: Kernporen. Pfeil: Plasmodesmen, quer. Nahe des Dictyosoms vier Coated Vesicles. Im Zentrum des Zellkerns lockeres Euchromatin, nahe der Kernhülle dichtes Heterochromatin (Maßstab 1 µm). – CP Chloroplasten, CV Coated Vesicles, D Dictyosomen, ER endoplasmatisches Reticulum, M Mitochondrien, P Peroxisom, S Stärke, V Vakuole. (Präparat und EM-Aufnahme: H. Falk)

sodass ein abgeteilter Raum entsteht, der in der Regel auch ein eigenes chemisches Milieu aufweist. Solche durch Membranen umschlossene Reaktionsräume heißen **Kompartimente** und sind sehr wichtig, weil dadurch unterschiedliche oder sich gar ausschließende chemische Reaktionen in ein- und derselben Zelle ablaufen können. **Kompartimentierung** macht es z. B. möglich, dass an einer Stelle der Zelle Proteine in einem sauren Milieu zu Aminosäuren abgebaut werden, während an anderer Stelle Aminosäuren in einem leicht basischen Milieu zu Proteinen zusammengefügt werden. Wie diese Zellkomponenten aufgebaut sind, welche Funktionen sie erfüllen und wie sie entstehen, wird in den folgenden Abschnitten detailliert behandelt. Zunächst jedoch sollen sie durch stichwortartige Definitionen charakterisiert werden. Da Organellen Einheiten sind, die eine bestimmte Funktion ausüben, ist es sinnvoll, diese Liste, ebenso wie die nachfolgenden Einzeldarstellungen, nach den jeweiligen Funktionen zu gliedern (▣ Abb. 1.8).

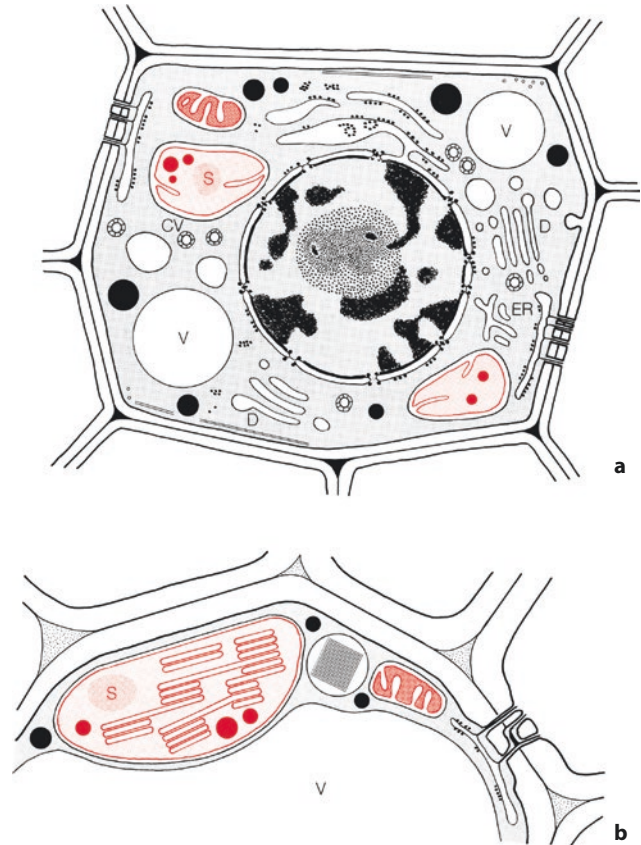
Cytoplasma – Ort des Stoffwechsels Die viskose bis gallertige Grundmasse der Zelle, in der die verschiedenen Organellen liegen, wird Cytoplasma genannt (griech.



■ **Abb. 1.7** Embryonale Pflanzenzellen aus einer Sprossknospe des Blumenkohls (*Brassica oleracea*) im EM, Gefrierbruchpräparat. Kryofixierte Zellen brechen vor allem entlang von Membranen parallel zur Bruchfläche; solche Membranen erscheinen daher in Flächenansicht (hier: die Hüllmembranen der beiden Zellkerne mit zahlreichen Kernporen). Mitochondrien und Proplastiden sind teils aufgebrochen, teils in Außenansicht als plastisches Relief sichtbar. Auch Plasmamembran und Tonoplast teils im Querbruch (Schnitt), teils in Flächenansicht sichtbar, ebenso, Zisternen des ER, sowie ein Dictyosom. In der Zellwand sind stellenweise Cellulosefibrillen erkennbar (Pfeile; Maßstab 1 µm). – ER endoplasmatisches Reticulum, D Dictyosom, M Mitochondrien, N Zellkerne, PM Plasmamembran, PP Proplastiden, V Vakuolen, Z Zellwand. (K.A. Platt-Aloia und W.W. Thomson; mit freundlicher Erlaubnis des J. Electron Micr. Techn. John Wiley & Sons, New York)

kýtos, Blase, Zelle; *plásma*, Gebilde; engl. *cytoplasm*). Das Cytoplasma ist der Ort vieler Stoffwechselreaktionen und fällt bei Zellfraktionierung als Cytosol („lösliche Fraktion“) an.

Cytoskelett – Werkzeug für Bewegung und Strukturierung Obwohl Pflanzenzellen sich im Gegensatz zu Tierzellen nicht fortbewegen, sind sie im Inneren sehr dynamisch. Die inneren Bewegungen werden durch das Cytoskelett (engl. *cytoskeleton*) vermittelt. Es ermöglicht mithilfe von **Motorproteinen**, aber auch durch Ab- und Aufbau, Bewegungsvorgänge innerhalb der Zelle, was als Plasmaströmung, Transport von Vesikeln oder Organellen oder der Wanderung der Chromosomen bei der Kern-



■ **Abb. 1.8** Schematische Darstellung des Feinbaus von Pflanzenzellen. **a** Embryonale Zelle. Zellwand mit Mittellamelle und Plasmodesmen; im Cytoplasma zwei Dictyosomen, glattes und raues ER, Ribosomen und Polysomen, verschiedene Vesikel (darunter auch Coated Vesicles) und Lipidtröpfchen (Oleosomen, schwarz). Unter der Zellmembran stellenweise Mikrotubuli, längs und quer; Vakuolen; im zentralen Zellkern ein Nucleolus und dichtes Chromatin; zwei Proplastiden (hellrot, mit Plastoglobuli und Stärke) und ein Mitochondrion (dunkelrot, mit Cristae). Die rot getönten Organellen enthalten eigene DNA; nichtplasmatische Kompartimente sind weiß. **b** Ausschnitt aus Gewebezelle mit stark vergrößerter Vakuole, Beispiel: Blattzelle. Ausgewachsene Primärwand (Sakkoderm), an den Zellecken Interzellularräume (punktiert); im Cytoplasma neben einem Mitochondrion, rER und Oleosomen ein Peroxisom mit Katalasekristall, sowie ein Chloroplast mit Thylakoiden, Plastoglobuli und Stärkekorn. Ebenfalls gezeigt die zu Tüpfeln zusammengefassten Plasmodesmen. Abkürzungen wie in ■ Abb. 1.6

teilung sichtbar wird. Zusätzlich können cytoplasmatische Enzyme am Cytoskelett verankert sein. Das Cytoskelett untergliedert also das Cytoplasma in metabolisch unterschiedliche Reaktionsräume. Bisweilen wird diese Untergliederung sogar lichtmikroskopisch als lokale Verfestigung sichtbar (der sog. Sol-Gel-Übergang). Bei Pflanzen fehlen die bei Tieren wichtigen Intermediärfilamente, als Polymere kommen nur **Mikrotubuli** (lat. *túbulus*, Röhrrchen; *filum*, Faden) und **Actinmikrofilamente** vor. Außerdem besitzen Pflanzenzellen in ihren Plastiden **FtsZ-Proteine** (► Abschn. 19.1.1). Dieses bei Tierzellen fehlende Element des Cytoskeletts ist prokaryotischen

Ursprungs und für die Teilung der Plastiden notwendig. Die Gene für diese Cytoskelettproteine sind jedoch im Zellkern codiert, sodass die FtsZ-Proteine in die Plastiden importiert werden müssen.

Zellkern – Werkzeug für Vererbung und Steuerung Wie Tiere und Pilze gehören Pflanzen den Eukaryoten an und verfügen über einen Zellkern (Nucleus, Karyon; engl. *nucleus*; lat. *nucleus* und griech. *káryon*, Kern), der häufig das größte plasmatische Organell darstellt. Gewöhnlich hat eine Zelle nur einen Zellkern, der von einer **Kernhülle** umwickelt, aber nicht umschlossen ist. Damit soll ausgedrückt werden, dass der Zellkern kein echtes Kompartiment darstellt. Sie ist eigentlich ein Teil des **endoplasmatischen Reticulums (ER)**, das den Kerninhalt in einer doppelten Lage (zwei eng aneinanderliegende Biomembranen) umhüllt, aber eben nicht durchgängig vom Cytoplasma abtrennt. In dieser Doppelmembran befinden sich charakteristische **Kernporen** (engl. *nuclear pores*), sodass Moleküle zwischen Cytoplasma und Kerninnerem (**Karyoplasma**) hin- und herwandern können, ohne eine Membran passieren zu müssen. Der Zellkern enthält den größten Teil des Erbguts der Zelle, die **genetische Information**, verschlüsselt in Basensequenzen langer DNA-Doppelhelices. DNA-Moleküle sind als zentrale Struktur- und Funktionselemente der **Chromosomen** mit basischen Proteinen, den Histonen, und weiteren Proteinen zum **Chromatin** (Chromosomensubstanz) organisiert. Der Zellkern enthält ein oder mehrere **Nucleoli** (Kernkörperchen), wo Vorstufen der cytoplasmatischen Ribosomen gebildet werden. Der Zellkern kann sich durch Kernteilung (**Mitose**) vermehren. Im Normalfall zerfallen dabei Kernhülle und Nucleoli. Die physiologisch aktive, dekondensierte „Arbeitsform“ des Chromatins geht durch Kondensation der einzelnen Chromosomen in die „Transportform“ über – für die stab- bis fadenförmigen, stark färbbaren Gebilde, die während der Mitose das Chromatin repräsentieren, war ursprünglich der Begriff „Chromosom“ geprägt worden. Chromosomen werden durch den **Spindelapparat** (engl. *mitotic spindle*; eine vor allem aus Mikrotubuli bestehende Struktur des Cytoskeletts) gleichmäßig auf Tochterzellen verteilt; in diesen werden dann Kernhülle und Nucleoli neu gebildet und ein Teil des Chromatins dekondensiert. In diesem dekondensierten **Euchromatin** werden dann die je nach Zelltyp unterschiedlichen DNA-Sequenzen in RNA **transkribiert**. Ein Teil des Chromatins bleibt jedoch nach der Mitose in kondensierter Form bestehen. Dieses **Heterochromatin** wird nicht transkribiert. Die Zellteilung ist in eine gesetzmäßige Folge von Stadien, den **Zellzyklus** (engl. *cell cycle*), eingebunden. Die Replikation der DNA (Verdopplung der Chromosomen) erfolgt in der S-Phase des Zellzyklus.

Ribosomen – Werkzeug der Proteinbiosynthese Ribosomen sind kleine (30 nm), dichte Partikel, an denen die im Kern abgelesene mRNA in die entsprechenden Proteine

„übersetzt“ wird (**Translation**). Ribosomen (griech. *sóma*, Körper, Teilchen) kommen entweder im Cytoplasma oder gebunden an das ER vor und sind meistens perlschnurartig zu **Polysomen** vereinigt.

Plasmamembran – Werkzeug der Integrität Die Plasmamembran (Zellmembran, Plasmalemma; engl. *plasma membrane*) ist bei allen lebenden Zellen die Grenze zwischen Innen und Außen. Diese „Haut der Zelle“ (lat. *membrána*, Haut) ist eine Lipiddoppelschicht, 6–11 nm dick und zähflüssig. Sie wird von integralen Membranproteinen quer durchspannt, während periphere Membranproteine mit der Oberfläche assoziiert sind. Die Plasmamembran ist, wie die meisten Biomembranen, selektiv permeabel: Sie lässt Wasser und ungeladene Moleküle passieren, Ionen und größere polare Teilchen (etwa Glucose) dagegen nur dann, wenn für sie spezifische Translokatoren in der Membran vorhanden sind. Man darf sich die Plasmamembran nicht als statisches Gebilde vorstellen, das den Innenraum der Zelle begrenzt. Vielmehr knospen sich ständig kleine Vesikel nach innen ab (**Endocytose**), während gleichzeitig andere Vesikel von innen an die Plasmamembran andocken und durch Verschmelzen ihren Inhalt nach außen freigeben (**Exocytose**). Messungen dieser Dynamik legen nahe, dass sich die Plasmamembran binnen weniger Stunden komplett austauscht.

Endomembransystem – Werkzeug der Kompartimentierung Auch im Inneren der Zelle finden sich zahlreiche Biomembranen. Sie bilden **Kompartimente** (engl. *compartments*). Diese von einer Membran umschlossenen Räume erlauben es der Zelle, sich eigentlich ausschließende Stoffwechselvorgänge nebeneinander ablaufen zu lassen. Im Gegensatz zu der von den Kernporen durchbrochenen Kernhülle sind diese Kompartimente von der Membran lückenlos in Innen von Außen getrennt. Das **endoplasmatische Reticulum (ER)** durchzieht als verzweigtes Membransystem das Cytoplasma (lat. *reticulum*, Netzwerk). Aufgrund von elektronenmikroskopischen Befunden werden traditionell zwei Formen unterschieden: das **raue ER (rER)** ist auf der Außenseite mit Polysomen besetzt, während das **glatte ER (sER, s von engl. *smooth*, glatt)** keine Polysomen trägt. Das rER liegt meistens in Form flacher Membranstapel vor, die als **Zisternen** bezeichnet werden. Eine solche Zisterne wird also von zwei Doppelmembranen gebildet. Ein typisches Beispiel ist die Kernhülle (engl. *nuclear envelope*), die als großflächige ER-Zisterne ausgebildet wird. Mithilfe der GFP-Technologie konnte gezeigt werden, dass das glatte ER in unterschiedlichen Formen vorkommt – die langen transvakuolären ER-Röhren sind relativ statisch, während das ER-Netzwerk in der Nähe der Plasmamembran extrem dynamisch ist. Vom rER werden fortwährend mit hoher Geschwindigkeit kleine Vesikel abgegliedert, die zu kleinen Stapeln ribosomfreier Zister-

nen wandern, den **Dictyosomen** (griech. *diktyon*, Netz). In diesen Zisternen werden am rER gebildete Proteine mit Zuckerresten gekoppelt (Glykosylierung), aber auch andere Moleküle, die sezerniert werden, synthetisiert. Die Dictyosomen gliedern an ihrer Außenseite **Golgi-Vesikel** ab, die dann über das Actincytoskelett zur Plasmamembran transportiert werden und dort durch **Exocytose** ihren Inhalt nach außen abgeben. Die Summe der Dictyosomen einer Zelle wird als **Golgi-Apparat** bezeichnet, nach Camillo Golgi (sprich Góldschi), dem Entdecker des Organells. Im allgemeinen Sprachgebrauch wird darunter jedoch zunehmend auch das einzelne Dictyosom verstanden. Das Endomembransystem ist also, ebenso wie die Plasmamembran, außerordentlich dynamisch. Es wandern zahlreiche **Vesikel** (lat. *vesica*, Blase; Verkleinerungsform *vesicula*) vom ER über den Golgi-Apparat zur Plasmamembran (**anterograde Transport**), gleichzeitig aber auch in Gegenrichtung (**retrograde Transport**). Vesikel sind kleine, runde Kompartimente, die der Verlagerung von Stoffen innerhalb der Zelle dienen. Sie entstehen an größeren Kompartimenten durch Abschnürung und vergehen an anderen Kompartimenten durch Verschmelzen. Eine Sonderform der Vesikel sind die nur 100 nm großen *Coated Vesicles*, die eine dichte Proteinhülle tragen und an der Endocytose beteiligt sind. Durch diese intensiven Vesikelströme (**Cytosen**) stehen Endomembransystem und Plasmamembran in einem fließenden Austausch (engl. *membrane flow*). Eine Besonderheit von Pflanzenzellen sind die großen **Vakuolen** (lat. *vacuus*, leer), große Kompartimente mit sehr saurem Milieu. Sie bilden in ausgewachsenen Pflanzenzellen die **Zentralvakuole**, die oft über 90 % des Zellvolumens ausmacht (■ Abb. 1.8). Ihr Inhalt, der **Zellsaft**, wird durch die Vakuolenmembran (**Tonoplast**) gegen das Cytoplasma abgegrenzt (griech. *tónos*, Spannung, Druck; *plásis*, Erzeugung). Vakuolen enthalten häufig Speicher- und Abfallstoffe wie auch Farbstoffe und andere sekundäre Pflanzenstoffe, darunter auch Abwehrstoffe, die gegen pathogene Mikroorganismen, aber auch Fressfeinde gerichtet sind.

Zellwand – Werkzeug der Morphogenese Eine Besonderheit von Pflanzenzellen ist die ausgeprägte Zellwand (engl. *cell wall*), die den von der Plasmamembran umschlossenen, lebenden Zellkörper (**Protoplast**) als formgebendes Exoskelett umgibt. Die Zellwand enthält reißfeste Fibrillen aus Cellulose und ist von feinen Kanälen (Plasmodesmen) – plasmatische Verbindungen zwischen Nachbarzellen (griech. *désmos*, Fessel, Verbindung) – durchsetzt, die oft zu Feldern, den auch lichtmikroskopisch sichtbaren Tüpfeln, zusammengefasst sind. Die Zellen unseres Körpers befinden sich in einem über unsere Nieren osmotisch streng kontrollierten Milieu, wo außen und innen ähnliche Konzentrationen von Ionen oder anderen Stoffen ge-

löst sind (**isotonische Bedingungen**). Im Gegensatz dazu sind Pflanzenzellen in der Regel einer wässrigen Umgebung ausgesetzt, wo nur wenige Ionen oder andere Moleküle gelöst sind (**hypotonische Bedingungen** im äußeren Milieu). Dadurch dringt durch die semipermeable Plasmamembran ständig Wasser in die Zelle ein, während die im Cytoplasma gelösten Stoffe nicht hinausgelangen. Der Protoplast sollte daher anschwellen und schließlich platzen. Dies wird durch die Zellwand verhindert, die den durch den Protoplasten erzeugten Druck (**Turgor**) aufhängt. Die Zellwand ist jedoch ebenfalls ein dynamisches System und kann dem Druck des eindringenden Wassers zu einem gewissen Grad nachgeben, wodurch die Zelle durch Aufnahme von Wasser wächst. Das aufgenommene Wasser sammelt sich zu einem großen Teil in der Vakuole – im Gegensatz zu Tierzellen können Pflanzenzellen ihr Volumen leicht um mehrere Größenordnungen steigern. Dabei wird die Richtung dieser Ausdehnung gesteuert: Die Orientierung der Cellulosefibrillen kann über eine spezielle Struktur des pflanzlichen Cytoskeletts, die **cortikalen Mikrotubuli**, reguliert werden. Dadurch entsteht eine Vorzugsrichtung für die Dehnbarkeit der Zellwand. Neben ihrer stützenden Funktion als Exoskelett ist die Zellwand also vor allem ein Werkzeug der Gestaltbildung von Pflanzen (**Morphogenese**).

Plastiden – Werkzeuge der Photosynthese Das Organell, welches Pflanzen zu Pflanzen werden lässt, sind die Plastiden (engl. *plastids*), die verschiedene Formen annehmen können. In grünen Zellen von Algen, Moosen und Gefäßpflanzen kommen sie als chlorophyllhaltige **Chloroplasten** vor (engl. *chloroplasts*; griech. *chlorós*, gelbgrün) und sind die Organellen der Photosynthese. Die Umwandlung der Lichtenergie (griech. *phos*, Sonnenlicht) in chemische Energie erfolgt an komplexen Membransystemen, die von chlorophyllhaltigen Membranzisternen (**Thylakoide**, griech. *thylakos*, Sack) gebildet werden. Hier entsteht unter anderem Adenosintriphosphat (**ATP**; chemische Energie wird durch Abspaltung des endständigen, dritten Phosphatrests frei und kann für energieverbrauchende Reaktionen – Synthesen, Bewegung, oder aktiven Transport an Membranen – eingesetzt werden). In Zellen nichtgrüner Pflanzengewebe nehmen die Plastiden andere Formen an: Als **Amyloplasten** dienen sie der Speicherung von Stärke, als gelb bis rot gefärbte **Chromoplasten** (griech. *chróma*, Farbe) dienen sie dazu, Tiere zur Bestäubung von Blüten oder zur Verbreitung von Früchten anzulocken. Diese Plastidenformen können sich abhängig von den Bedingungen ineinander umwandeln, leiten sich jedoch alle von kleinen, nichtpigmentierten **Proplastiden** ab, die man in Bildungsgeweben (**Meristemen**) findet. Alle Plastiden sind stets von einer doppelten Membranhülle umgeben und enthalten eigene DNA und Ribosomen, die sich in

Größe und Funktion von denen des Cytoplasmas unterscheiden (Plastoribosomen). Plastiden bilden sich ausschließlich durch Teilung aus anderen Plastiden und können nicht von der Zelle neu gebildet werden. Alle Plastidenformen sind zur Bildung von **Stärkekörnern** und Öltröpfchen (**Plastoglobuli**) befähigt.

Mitochondrien, Peroxisomen, Oleosomen – Werkzeuge der Energiewandlung Während die Plastiden nur bei Pflanzen vorkommen, sind die Mitochondrien (engl. *Mitochondria*; griech. *Mitos*, Faden; *chondros*, Korn – wegen der fädigen, in anderen Fällen kurz-ovalen Umrissform) Organellen, die auch bei allen anderen Eukaryoten vorkommen. So wie die Plastiden sind sie mit eigener DNA und eigenen Ribosomen ausgestattet. Diese Mitoribosomen sind, ähnlich wie die Plastoribosomen, mit 20 nm deutlich kleiner als die etwa 25 nm großen Ribosomen im Cytoplasma und ähneln denen der Bakterien. Mitochondrien entstehen ebenfalls nur aus ihresgleichen durch Teilung und sind auch wieder von einer doppelten Membranhülle umgeben. Mitochondrien sind die Organellen der Zellatmung, bei der ATP gebildet wird. Die Bildung von ATP und Teile der **Zellatmung** erfolgen an der inneren Hüllmembran, deren Fläche durch Einfaltungen in den Organellkörper vergrößert ist (**Cristae**, lat. *crista*, Kamm). Die **Peroxisomen** wurden früher als Sonderform von Vesikeln gedeutet, in denen oxidative Prozesse stattfinden können. Sie sind jedoch relativ groß (etwa 1 µm Durchmesser) und dicht und können sowohl mit den Plastiden als auch mit den Mitochondrien enge Verbindungen eingehen (es wird derzeit intensiv diskutiert, inwiefern hier sogar ein Membranfluss zwischen diesen Organellen auftritt). Sie spielen eine wichtige Rolle beim oxidativen Abbau von Lipiden, bei der Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies (engl. *reactive oxygen species*, ROS), aber auch bei der Bildung des Pflanzenhormons Jasmonsäure. Sie reichern große Mengen des Enzyms Katalase an, das Wasserstoffperoxid (H₂O₂) zu Wasser und molekularem Sauerstoff umsetzt. In Geweben, wo rasch Speicherfett mobilisiert werden muss, treten sie als sogenannte **Glyoxysomen** auf, häufig im Verbund mit **Oleosomen**, kugelförmigen Organellen, die im Cytoplasma Öl speichern (lat. *oleum*, Öl). Ähnlich wie die Plastiden, sind die Peroxisomen also zu einem gewissen Formwandel befähigt, was sie deutlich von den anderen Vesikeln abhebt.

Wenn Zellen in einem Organismus unterschiedliche Aufgaben übernehmen, sich also differenzieren, behalten manche Organellen – beispielsweise der Golgi-Apparat – ihre Gestalt und Funktion bei, während andere starke Veränderungen durchlaufen. Vor allem bei Plastiden, Vakuolen und Zellwände, zu einem geringeren Grad auch bei Mitochondrien und Peroxisomen, ist die Differenzierung der Zelle von einer Veränderung auf der Ebene des Organells begleitet.

1.2.2 Cytoplasma – Ort des Stoffwechsels

Als **Cytoplasma** wird die zähflüssige oder gallertige Masse bezeichnet, in der die Ribosomen, die Elemente des Cytoskeletts, die Plastiden und Mitochondrien, der Zellkern und oft auch Aggregate von Speicherstoffen (Oleosomen) eingebettet sind. Das Cytoplasma ist reich an Enzymen: Die Gesamtkonzentration an Protein liegt zwischen 10 und 30 %. Im Cytoplasma ist ein erheblicher Teil des Wassers als Hydratwasser an Proteine gebunden. Über aktive Ionenpumpen (also unter Aufwendung von ATP) an den begrenzenden Membranen wird im Cytoplasma ein besonderes **Ionenmilieu** aufrechterhalten. Im Vergleich zum Außenmedium ist das Cytoplasma reich an K⁺, arm an Na⁺ und enthält nur sehr wenig Ca²⁺. Der pH liegt knapp über 7. In diesem Bereich haben die Enzyme des Cytoplasmas ihr pH-Optimum.

Im Cytoplasma laufen viele wichtige **Reaktionen und Reaktionswege des Stoffwechsels** ab (Glykolyse, die Bildung von Speicherlipiden, die Synthese von Saccharose, Nucleotiden und Aminosäuren, sowie – an den Ribosomen – die Proteinbiosynthese; ▶ Abschn. 19.8, 19.9, 19.10, 19.11, 19.12, 19.13, 19.14 und 14.8). Im Cytoplasma vieler Pflanzenzellen werden wichtige Sekundärmetaboliten gebildet (darunter viele Wirkstoffe mit medizinischer Wirkung), die dann in Vakuolen oder Zellwände verlagert und dort gespeichert werden. Während bei Pilzen und Tieren auch die Fettsäuren im Cytoplasma synthetisiert werden, ist dieser Stoffwechselweg bei Pflanzen in den Plastiden lokalisiert.

Das Cytoplasma kann seine Viskosität verändern: Der flüssige Zustand wird als **Sol**, der verfestigte Zustand wird als **Gel** bezeichnet. Für diese Veränderung ist vor allem das Cytoskelett verantwortlich. Während globuläre Makromoleküle (wie etwa die Enzymproteine) auch bei hoher Konzentration niedrig viskos bleiben, bilden lang gestreckte Teilchen wie Actinfilamente und Mikrotubuli schon bei geringen Konzentrationen Gallerte. In der lebenden Zelle können diese Cytoskelettelemente schnell auf- und abgebaut werden, was sich in den als Sol-Gel-Übergang bezeichneten Änderungen der Viskosität des Cytoplasmas sichtbar macht (und damit den Begriff Cytoskelett relativiert). Im Vergleich zu Tierzellen, Einzellern oder Pilzen ist das Cytoplasma von Pflanzenzellen häufiger im Solzustand. Der Gelzustand ist vor allem direkt unterhalb der Plasmamembran, in den außen liegenden **corticalen** Plasmapartien (von lat. *cortex*, Rinde) zu beobachten, während das innenliegende **Endoplasma** eher flüssig ist. In manchen Zellen (vor allem in besonders großen Zellen) lässt sich häufig eine auffällige Plasmaströmung beobachten, die durch das Actinskelett im Verbund mit Myosinmotoren aktiv verursacht wird und sich auf das Endoplasma beschränkt. Sie dient vermutlich dem schnellen intrazellulären Stofftransport, für den bloße Diffusion nicht ausreicht. Im Fall der Plasmarotation umrundet das Endoplasma in konstanter, einheitlicher Bewegung die Zentralvakuole in einfachen Umläufen oder auf Achterbahnen. Diese Art der Plasmaströmung wird in den außergewöhnlich großen Internodialzellen von *Chara* und *Nitella* beobachtet (■ Abb. 19.80), aber auch in Blattzellen der bekannten Aquariumpflanzen *Elodea* und *Vallisneria* oder im Staubfadenhaar von *Tradescantia*. In Zellen mit Spitzenwachstum (Wurzelhaare, Pol-

lenschläuche), in Haarzellen (wie den Brennhaaren der Brennnessel) und vielen Epidermiszellen erfolgt die Plasmaströmung in zahlreichen, teilweise gegenläufigen Strömungen, bevorzugt auch in Plasmasträngen, die die Zentralvakuole durchspannen (■ Abb. 1.56c; zur Physiologie intrazellulärer Bewegungen ► Abschn. 15.2.2). Angetrieben wird diese Bewegung durch das an den Grenzflächen zwischen Endoplasma und dem corticalen Plasma angesiedelten Actomyosinsystem (► Abschn. 1.2.3.2), das durch Verschiebung von Organellen (vor allem Plastiden) Scherkräfte erzeugt, die wiederum das flüssigere Endoplasma verschieben.

1.2.3 Cytoskelett – Werkzeug für Bewegung und Strukturierung

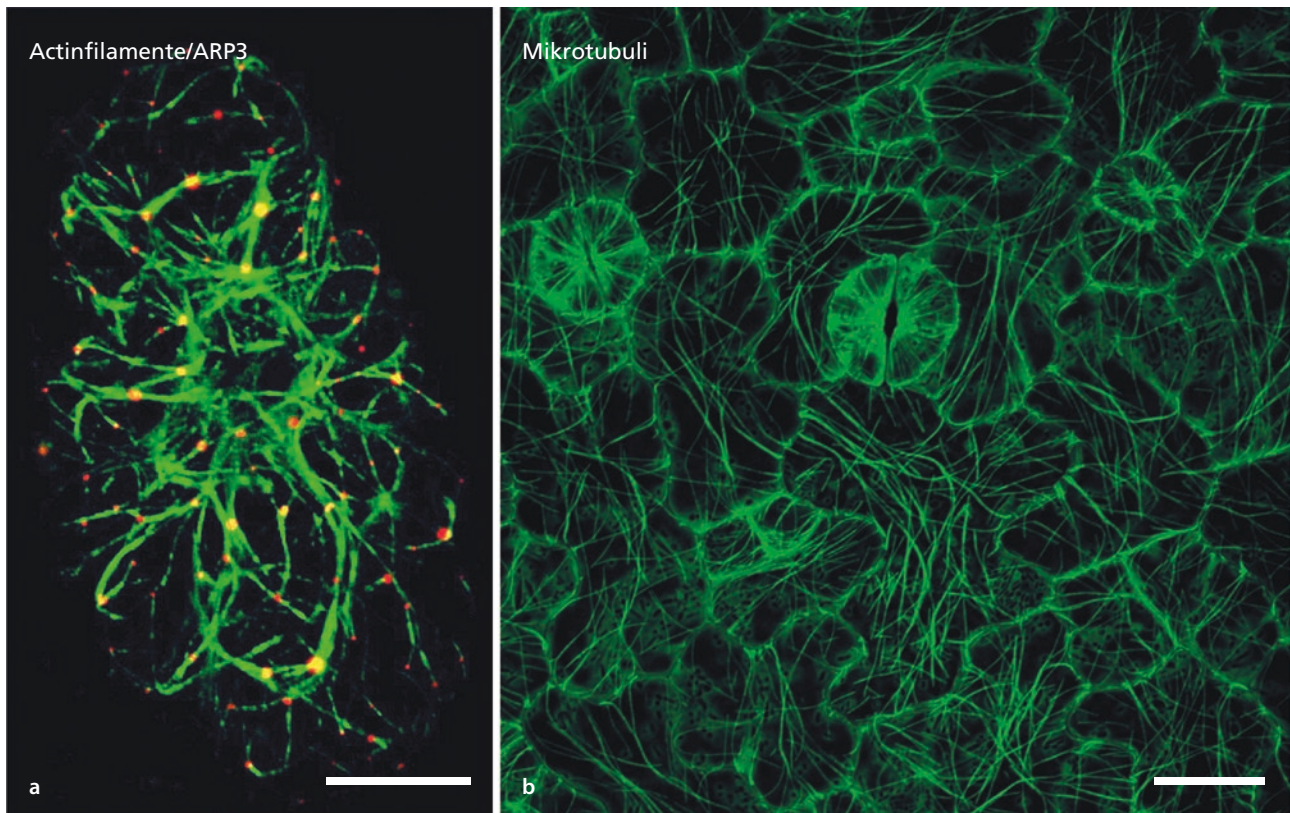
1.2.3.1 Bausteine des pflanzlichen Cytoskeletts

Wegen der an der Plasmamembran wirkenden Grenzflächenkräfte sollten sich Zellen eigentlich abkugeln, da dann das Verhältnis Oberfläche zu Volumen minimal und damit energetisch günstig ist. In der Tat nehmen Pflanzen- und Bakterienzellen, deren Zellwand entfernt wurde, eine Kugelgestalt an (den **Protoplasten**, vgl. ■ Abb. 1.45), ihre Form wird also vor allem durch die

Zellwand aufrechterhalten. Bei Tierzellen und wandlosen Einzellern werden Abweichungen von der Kugelgestalt durch das **Cytoskelett** ermöglicht. Im Gegensatz zu den Zellwänden, die nur langsam durch Anlagerung neuer Schichten verändert werden können und daher nur langsame Änderungen der Zellgestalt erlauben, kann das Cytoskelett rasch auf- und abgebaut werden, was für die schnellen Formänderungen, aber auch für die Fortbewegung von Tierzellen wichtig ist. Für die von einer Zellwand umgebenen Pflanzenzellen ist die formgebende Funktion des Cytoskeletts natürlich irrelevant.

Das Cytoskelett der Algen und Pflanzen besteht aus Actinmikrofilamenten und Mikrotubuli und den mit ihnen verknüpften Proteinen (■ Abb. 1.9). Dagegen fehlen die bei Tierzellen wichtigen Intermediärfilamente.

Actin wurde zunächst aus Muskelfasern isoliert, erst später hat man seine allgemeine Verbreitung in Zellen von Eukaryoten nachgewiesen. Das globuläre Actinmolekül (**G-Actin**) hat einen Durchmesser von 4 nm und eine Masse von 42 kDa. Zwischen der größeren C-terminalen und der kleineren N-terminalen Domäne liegt eine Bindungsstelle für ATP. In Lösungen von G-Actin können sich spontan Actinfilamente bilden



■ **Abb. 1.9** Cytoskelett in Pflanzenzellen. **a** Actinfilamente in einer lebenden Tabakzelle, mithilfe des Markers GFP-FABD2 (Fimbrin-Actin-Bindungsdomäne 2) sichtbar gemacht. Gleichzeitig wurde ARP3 (engl. *actin related protein 3*), ein Bestandteil des Nucleationskomplexes, mithilfe des rot fluoreszierenden Proteins (RFP) sichtbar gemacht (Maßstab 20 µm). **b** Mikrotubuli in Epidermiszellen eines Keimblatts von *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand), mithilfe des Markers GFP-Tubulin β6 und *spinning disc*-Mikroskopie sichtbar gemacht (Maßstab 50 µm). (a von J. Maisch; b von V. Sahi)



■ **Abb. 1.10** Actinmikrofilament. Die globulären (genauer: ellipsoiden) Actinmonomere aggregieren zu Schrauben mit ungefähr zwei Molekülen pro Umlauf. Das verleiht dem Mikrofilament das Aussehen einer steilen Doppelschraube mit einer Periode von knapp 40 nm

(**Mikrofilamente; F-Actin; ■ Abb. 1.10**), wodurch die Spaltung der an die G-Actin-Untereinheiten (**Proto-mere**) gebundenen ATP-Moleküle stimuliert wird. G-Actin-Protomere in Actinmikrofilamenten liegen deshalb mehrheitlich in der ADP-gebundenen Form vor.

Mikrofilamente weisen eine ausgeprägte dynamische **Polarität** auf. Damit ist gemeint, dass G-Actin-Untereinheiten vor allem an einem Ende (dem Plus-Ende) eingebaut werden. In der lebenden Pflanzenzelle wachsen Actinfilamente von bestimmten Punkten im kortikalen Plasma, aber auch von der Kernhülle aus. Hier finden sich actinbindende Proteine wie der ARP2/3-Komplex (ARP für *actin related protein*), der die Nucleation neuer Actinfilamente fördert (■ Abb. 1.9).

Geschwindigkeit und Ausmaß des Wachstums von Mikrofilamenten, ebenso wie ihre Lage und Orientierung werden durch **actinbindende Proteine** gesteuert, von denen es auch bei Pflanzenzellen zahlreiche Arten gibt, die etwa den Aufbau oder Zerfall von F-Actin fördern oder hemmen, Actinfilamente vernetzen, verzweigen oder bündeln, am weiteren Wachstum hindern oder gar zerschneiden können. So führt **Profilin** dazu, dass G-Actin am wachsenden Ende beschleunigt polymerisiert, während die **actindepolymerisierenden Faktoren** die Freisetzung von G-Actin-Monomeren fördern, sodass sich die Actinfilamente verkürzen. Dort wo sich die Zelloberfläche lokal verändert, sind Actinfilamente häufig angereichert, etwa bei Zellen, die vor allem an der Spitze wachsen (Wurzelhaare, Pollenschläuche), aber auch bei der Zellteilung, wenn sich die Zellplatte bildet und hier die primären Plasmodesmen ausgespart werden (► Abschn. 1.2.4.6 bzw. ► Abschn. 1.2.8.3). Um die Funktion von Actinfilamenten zu untersuchen, sind spezifische Hemmstoffe von großem Nutzen. Beispielsweise lässt sich G-Actin durch den Wirkstoff **Latrunculin B** aus dem Rotmeerschwamm *Negombata magnifica* (früher *Latrunculia*) unumkehrbar komplexieren. Dadurch wird die Polymerisation von G-Actin am Plus-Ende unterbrochen, während die Freisetzung von G-Actin andauert. Die Actinfilamente werden also infolge der ihnen innewohnenden Dynamik immer kürzer und verschwinden schließlich ganz. Intrazelluläre Bewegungsvorgänge, an denen Mikrofilamente beteiligt sind, werden durch Latrunculin B (ähnlich wie durch die Pilzgifte Cytochalasin B und Cytochalasin D) blockiert. So ließ

sich zeigen, dass die Plasmaströmung, die Chloroplastenverlagerung als Reaktion auf starkes Licht, aber auch das Streckungswachstum von Epidermiszellen von Actinfilamenten abhängen. Es gibt aber auch Wirkstoffe, die Actinfilamente stabilisieren und bündeln: Ein Gift des Grünen Knollenblätterpilzes *Amanita phalloides*, **Phalloidin**, lässt das Actin zu nicht mehr abbaubaren Filamenten aggregieren und hebt damit die lebenswichtige Dynamik des Cytoskeletts auf. Actin ist eines der am höchsten konservierten Proteine der Eukaryoten; seine Aminosäuresequenz ist während der stammesgeschichtlichen Entwicklung kaum verändert worden. Allerdings gibt es im Genom der meisten Eukaryoten mehrere Actingene, deren Produkte nicht völlig identisch sind. Man spricht von Isotypen oder Isovarianten.

Im Gegensatz zu Actinmikrofilamenten bestehen die **Mikrotubuli** (■ Abb. 1.11) aus Bausteinen, die α - und β -Tubulin enthalten. Die strukturelle Ähnlichkeit zwischen den Tubulinen ist sehr hoch, obwohl nur etwa 40 % der Aminosäuresequenz übereinstimmen. Diese beiden Proteine sind zu einem Paar (Heterodimer) von etwas mehr als 100 kDa verknüpft und können sich in Gegenwart von GTP und in Abwesenheit von Calciumionen spontan zu Mikrotubuli (lat. *tubulus*, Röhrchen) zusammenlagern. In der Regel besteht die Wand eines solchen Mikrotubulus aus 13 Längsreihen (Protofilamenten) gleich orientierter Tubulinheterodimere. Die auf diese Weise entstehende röhrenförmige Quartärstruktur ist mit etwa 25 nm Durchmesser viel größer als die nur 7 nm dünnen Actinmikrofilamente. Mikrotubuli sind daher vergleichsweise starre Gebilde, die daher Druckkräfte übertragen können, während die elastischen Actinfilamente vor allem Zugkräfte aufnehmen. In der Zelle sind beide Systeme miteinander verbunden, wodurch eine Struktur entsteht, die in der Lage ist, mechanische Kräfte über die gesamte Zelle hinweg zu bündeln (**Tensegrität**). Ähnlich wie wir aufgrund unserer Muskelspannung auch mit geschlossenen Augen eine genaue Vorstellung von unserem Körper gewinnen, kann die Zelle die Tensegrität nutzen, um ihre räumliche Ordnung festzustellen und zu steuern. Das spielt für die Verarbeitung von mechanischen Reizen (Schwerkraft, osmotischer Stress, aber auch Verwundung oder Angriff von Schadorganismen) eine wichtige Rolle.

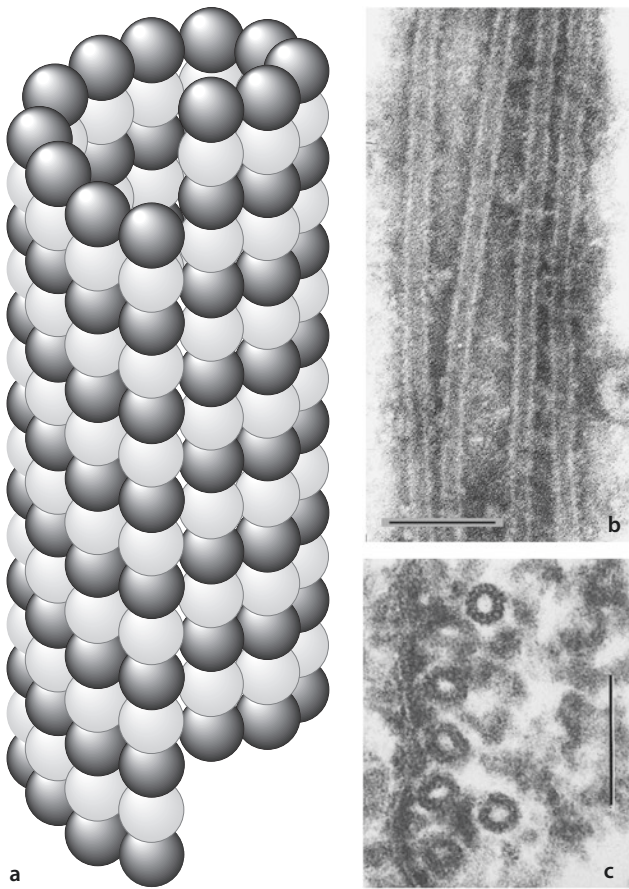


Abb. 1.11 Tubulin und Mikrotubuli. **a** Heterodimere aus globulärem α - und β -Tubulin (hell/dunkel; je ca. 50 kDa, 4 nm Durchmesser) sind in Längsreihen, den Protofilamenten, gleich ausgerichtet. Dreizehn Protofilamente bilden den hohlzylindrischen Mikrotubulus. Die Heterodimere benachbarter Protofilamente sind dabei leicht gegeneinander versetzt, sodass eine flache Schraubenstruktur entsteht. Am Saum (im Schema vorne) liegen nicht wie sonst jeweils α - neben α - und β - neben β -Tubulin-Einheiten, sondern α - neben β -Tubulin. **b** Mikrotubuli der Banane (*Musa \times paradisiaca*) im Negativkontrast. **c** Querschnittene Mikrotubuli eines Präprophasebands (Abb. 1.13b) in einer embryonalen Zelle der Wurzelhaube einer Küchenzwiebel; stellenweise sind 13 Protofilamente erkennbar. (Maßstäbe in B, C 0,1 μ m.) (EM-Aufnahmen: B I. Dörr; C H. Falk)

Ähnlich wie bei Actin werden die α - und β -Tubuline bei den Landpflanzen von mehreren Genen codiert. Bei den synthetisierten Proteinen handelt es sich um **Isotypen**, die sich vor allem im C-Terminus unterscheiden. Bei vielen Algen und Pilzen liegt dagegen nur ein Gen für α -Tubulin und ein Gen für β -Tubulin vor. Wie die Actinfilamente sind auch die Mikrotubuli polar, besitzen also ein Plus-Ende, an dem die Tubulinheterodimere eingebaut werden, und ein Minus-Ende, an dem die Freisetzung von Heterodimeren überwiegt. Während Actin ATP bindet, besitzt das β -Tubulin eine Bindungsstelle für GTP, das zu GDP hydrolysiert werden kann, wo-

durch das Heterodimer von einer gestreckten in eine leicht abgeknickte Konformation übergeht. An freie Tubulinheterodimere, wie sie in den meisten Zellen reichlich vorhanden sind, ist GTP gebunden. Am Plus-Ende ist der Mikrotubulus also vorzugsweise mit GTP dekoriert. Befindet sich ein Heterodimer aber weiter vom Plus-Ende entfernt (wurde es also schon vor längerer Zeit eingebaut), steigt die Wahrscheinlichkeit, dass das GTP schon zu GDP hydrolysiert wurde. Damit steigt auch der Anteil von abgeknickten Heterodimeren, sodass sich in längeren Mikrotubuli eine innere Spannung aufbaut, die sich schlagartig entladen kann, indem die Protofilamente auseinanderweichen, das Plus-Ende also zerfasert und der Mikrotubulus zerfällt (**Mikrotubulikatastroph**e). Während man lange annahm, dass die Tubuline eine Entwicklung der Eukaryoten sind, zeigte sich in den 1990er-Jahren, dass es prokaryotische Vorläufer gibt, die ebenfalls GTP spalten und auch polymerisieren können. Diese **FtsZ**-Proteine finden sich in vielen Bakterien und sind für die Bildung des Teilungsrings verantwortlich, der die Tochterzellen bei der Zellteilung voneinander trennt. Interessanterweise findet man enge Verwandte bakterieller FtsZ-Gene im Kerngenom von Pflanzen, nicht aber im Kerngenom von Tieren. Der Grund ist die wichtige Rolle dieser FtsZ-Proteine für die Teilung der Plastiden.

Ähnlich wie die Actinfilamente, gehen die Mikrotubuli von bestimmten Nucleationsstellen, den **mikrotubuliorganisierenden Zentren** (engl. *microtubule organizing centres*, **MTOCs**) aus. Bei Tierzellen sind dies vor allem die Centriolen, die bei den Pflanzen fehlen. Bei begeißelten Zellen (viele einzellige Algen oder Spermazellen von Moosen, Farnen und einigen urtümlichen Nacktsamern) können die mit den Centriolen verwandten Basalkörper der Geißeln als MTOCs fungieren. Bei allen anderen Pflanzenzellen ist die Kernhülle das wichtigste MTOC, weitere Nucleationsstellen finden sich punktförmig im corticalen Plasma verteilt, während der Zellteilung auch im Polbereich der Teilungsspindel (Exkurs 1.3). Die als kurze Linkschrauben geformten Bildungsorte (Nucleationsstellen) neuer Mikrotubuli am MTOC bestehen aus einem ringförmigen Komplex aus mehreren spezifischen Proteinen und enthalten einen dritten Isotyp des Tubulins, das γ -Tubulin. Daran lagern sich die Heterodimere so an, dass das α -Tubulin zum MTOC (zum Minus-Ende des Mikrotubulus) zeigt, während das β -Tubulin in Richtung Plus-Ende des Mikrotubulus orientiert ist. Im Gegensatz zu Tierzellen, ist γ -Tubulin nicht nur in den MTOC-assoziierten γ -Tubulin-Ringkomplexen zu finden, sondern auch entlang der gesamten Mikrotubuli und an bestimmten Endomembranen (z. B. besonders an der äußeren Kernmembran).

Exkurs 1.3 Kernteilungsspindel

Die Chromosomenbewegungen während der Mitose und der Meiose werden überwiegend vom Spindelapparat bewirkt. Er wird für jede Kernteilung neu auf- und nach ihrem Ende wieder abgebaut. Im Lichtmikroskop lassen sich unter günstigen Bedingungen Spindelfasern erkennen, die aus außerordentlich dynamischen Mikrotubuli bestehen. Der Spindelapparat ist aus zwei spiegelbildlichen Hälften aufgebaut. Obwohl die Teilungsspindeln von Tier- und Pflanzenzellen ähnlich sind, gibt es doch entscheidende Unterschiede, die in [Abb. 1.12](#) vergleichend dargestellt sind:

- Bei der Teilungsspindel von Tierzellen werden die Mikrotubuli von Centriolen organisiert. Bei Pflanzenzellen fehlen diese Centriolen. Vielmehr fungieren die beiden Polregionen der Spindel als Mikrotubuliorganisationszentren (MTOCs).
- Bei der Teilungsspindel von Tierzellen ziehen Astermikrotubuli vom Pol nach außen. Bei Pflanzenzellen fehlen diese Astermikrotubuli.
- Die Teilungsspindel von Tierzellen läuft spitz auf ein klar definiertes Areal um das Centriol herum zu. Bei Pflanzenzellen fehlt diese klare Ausrichtung. Die Spindel beginnt in einer breiten und diffusen Zone, erscheint also viel flacher.

Die Spindel ist aus den folgenden Komponenten aufgebaut: Die **Kinetochormikrotubuli** wachsen von der Polregion aus zu den **Kinetochoren**, dreischichtigen Anheftungsplatten an den Centromeren der Chromosomen. Sie verkürzen sich, während die Chromosomen von der Zellmitte in Richtung der **Polregion** wandern. So entsteht der Eindruck, sie zögen die Chromosomen zum Pol (daher wurden sie früher als Chromosomen- oder Zugfasern be-

zeichnet), doch sind Mikrotubuli nicht in der Lage, Zugkräfte zu übertragen. Die **Polmikrotubuli** (früher auch kontinuierliche Fasern oder Polfasern genannt) ziehen zum **Spindeläquator** und überlappen dort, in der Symmetrieebene der Spindel, mit den Polmikrotubuli der Gegenseite. In dieser Region entsteht in der Telophase der Phragmoplast ([► Abschn. 1.2.4.6](#)). Die Polmikrotubuli verschieben sich gegeneinander und stemmen so die Spindel auseinander. Die bei Tierzellen gebildeten **Astermikrotubuli** strahlen von den Polen nach außen. Bei den Teilungsspindeln der höheren Pflanzen fehlen sie zumeist. Der Spindelapparat ist von Actinfilamenten umgeben, die als Matrix auf noch nicht ganz verstandene Weise am Teilungsgeschehen teilnehmen. Ebenso ist die Spindel von ER umgeben, dessen Fortsätze bis zwischen die Spindelmikrotubuli hineinreichen (**mitotisches Reticulum**).

Während der Prophase formieren sich die Spindelmikrotubuli rund um den Zellkern. Lichtmikroskopisch werden unmittelbar außerhalb der Kernhülle flache, doppelbrechende Bereiche sichtbar, aus denen alle größeren Zellorganellen ausgeschlossen sind (**Polkappen**). Hier entstehen verdichtete Plasmazonen ohne scharfe Begrenzung, die als MTOCs fungieren.

In der Anaphase laufen mehr oder weniger synchron zwei Bewegungen ab. Einerseits wandern die Centromere der Tochterchromosomen unter Verkürzung der Kinetochormikrotubuli polwärts (Anaphase A), andererseits entfernen sich die Pole, vermittelt durch die gegenseitige Verschiebung der Polmikrotubuli in der Überlappungszone, immer mehr voneinander (Anaphase B). Beide Bewegungsvorgänge laufen stetig und langsam ab mit einer Geschwindigkeit in der Größenordnung von $1 \mu\text{m min}^{-1}$. Als Folge dieser Bewegung werden die beiden Tochterchromosomensätze vollständig voneinander getrennt.

Da im Spindelapparat nur die Spindelpole als MTOCs fungieren, befinden sich die Minus-Enden aller Mikrotubuli an den Polen und die Plus-Enden in der **äquatorialen Überlappungszone** und an den Kinetochoren. In der Überlappungszone sind die Mikrotubuli der beiden Halbspindeln also antiparallel orientiert. **Kinesinmotoren**, die zum Plus-Ende wandern und über Bindungspartner mit den antiparallelen Mikrotubuli der anderen Halbspindel verbunden sind, stemmen die Polmikrotubuli unter Verbrauch von ATP in Richtung Pol, sodass die Halbspindeln auseinandergeschoben werden (Wirkung der Polmikrotubuli als Stemmkörper, Anaphase B). Der Mechanismus von Anaphase A ist weniger gut geklärt. Überraschenderweise verlagern sich die Kinetochormikrotubuli während der Anaphase nicht, sie verkürzen sich nicht am Pol, sondern am

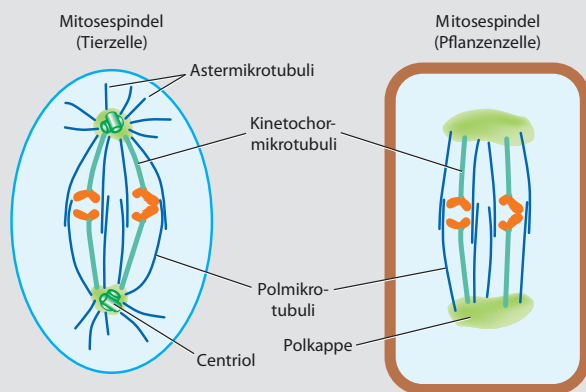


Abb. 1.12 Kernteilungsspindel von Tieren und Pflanzen im Vergleich

Kinetochor, also an ihrem Plus-Ende, wobei die Verbindung zu den Chromosomen stets erhalten bleibt. Bei Spindeln in Tierzellen ist an dieser Stelle cytoplasmatisches **Dynein** konzentriert, also ein Mikrotubulomotor, der zum Minus-Ende wandert. Höhere Pflanzen haben im Laufe der Evolution ihre Dyneine jedoch verloren (nur in den

Spermatozoiden von Moosen, Farnen und primitiven Gymnospermen kommen sie im Zusammenhang mit der Begeißelung noch vor). Stattdessen wurden neuartige **Kinesine** entwickelt, die zum Minus-Ende wandern und möglicherweise die Funktion der Dyneinmotoren übernommen haben.

Geschwindigkeit und Ausmaß der Verlängerung von Mikrotubuli hängen nicht nur von der Verfügbarkeit von Tubulinheterodimeren und GTP ab, sondern können von verschiedenen anderen Faktoren gesteuert werden. So wird die Polymerisation der Mikrotubuli durch Ausschüttung von Calcium (Schwellenkonzentration $0,1 \mu\text{M}$) gehemmt. Im Vergleich zur Situation *in vitro* (im Reagenzglas) bilden sich Mikrotubuli *in vivo* (in der lebenden Zelle) bei etwa zehnfach niedrigeren Tubulinkonzentrationen. Dies geht auf verschiedene **mikrotubuliassozierte Proteine (MAPs)** zurück, die Nucleation, Verlängerung, Verkürzung, Bündelung, Bindung an Organellen und Membranen oder Verschiebung von Mikrotubuli gegeneinander bewirken können. Die MAPs von Tieren und Pflanzen besitzen nur wenige strukturelle Gemeinsamkeiten und sind evolutionär nur sehr entfernt miteinander verwandt. Das für die Mikrotubulibündel im neuronalen Axon wichtige $\text{MAP}\tau$ (dessen durch Hyperphosphorylierung verursachte Ablösung von den Mikrotubuli als eine der Ursachen für die Alzheimer-Demenz identifiziert wurde) fehlt z. B. bei Pflanzen vollkommen. Einige pflanzliche MAPs wirken auch als Signalproteine (z. B. die membranassoziierte Phospholipase D) oder werden durch Signalketten (etwa über Phosphorylierung) aktiviert. Eine Sondergruppe der MAPs sind die Dynein- und Kinesinmotoren (vgl. ▶ Abschn. 1.2.3.2), wobei die Dyneinmotoren während der Evolution der Landpflanzen immer mehr an Bedeutung verloren und bei den Samenpflanzen vollständig verschwunden sind (bei ursprünglichen Gymnospermen wie *Ginkgo biloba* werden sie für den begeißelten Spermatozoiden benötigt – diese Funktion wurde durch die Entwicklung des Pollenschlauchs obsolet).

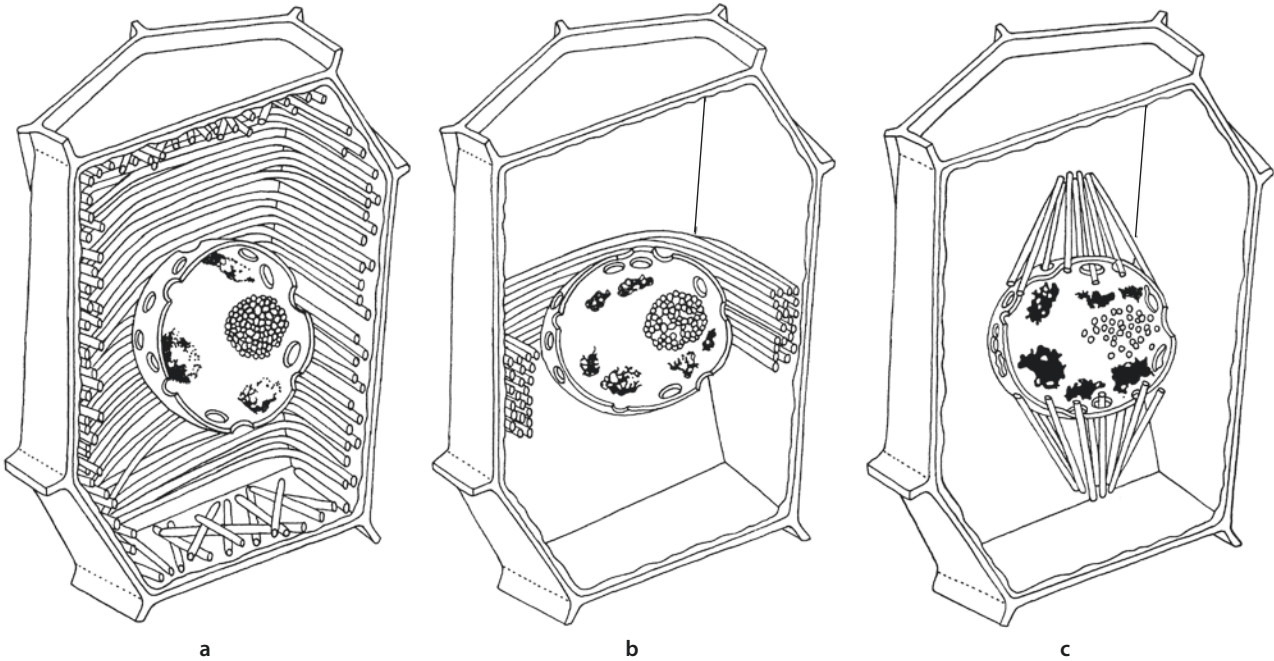
Wie bei den Mikrofilamenten kann auch der Auf- und Abbau von Mikrotubuli durch spezifische Drogen beeinflusst werden. Am längsten bekannt ist das **Colchicin**, ein Alkaloid der Herbstzeitlosen (*Colchicum autumnale*). Es bindet an das β -Tubulin freier Tubulinheterodimere und blockiert ihren Einbau in Mikrotubuli. Heute werden zum experimentellen Abbau pflanzlicher Mikrotubuli vor allem die stärker und spezifischer wirkenden Herbizide Oryzalin und Amiprophosmet-hyl (APM) eingesetzt. Die umgekehrte Wirkung hat **Taxol**, ein Alkaloid der Eibe (*Taxus*, ▶ Abb. 14.102). Es unterdrückt die Depolymerisation der Mikrotubuli und stabilisiert sie dadurch.

Mikrotubuli ein und derselben Zelle unterscheiden sich in der Dynamik des Dimeraustauschs, sodass man stabile und labile Mikrotubuli unterscheiden kann. Diese unter-

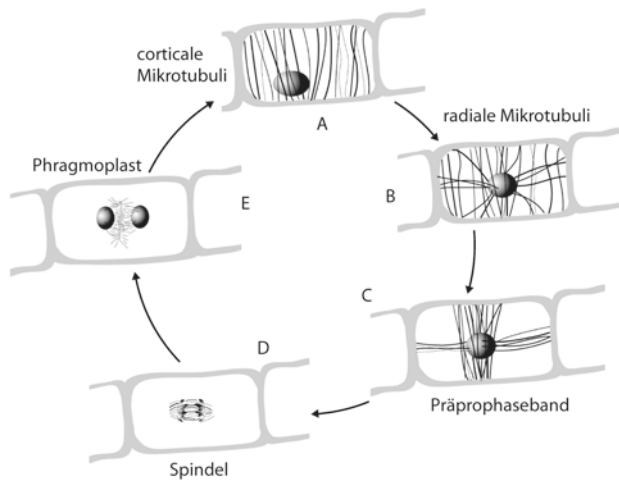
schiedliche Dynamik führt auch zu biochemischen Unterschieden. Die stabilen Mikrotubuli werden oft posttranslational modifiziert. So wird am α -Tubulin ein bei allen Eukaryoten konserviertes Tyrosin enzymatisch abgespalten. Wird dieses detyrosinierte Tubulin später aus dem Mikrotubulus freigesetzt, kann es von einem anderen Enzym, der Tubulintyrosin-Ligase, wieder angeheftet werden. Da das detyrosinierende Enzym bevorzugt an Mikrotubuli bindet, werden stabile Mikrotubuli stärker modifiziert als dynamische. Diese erhöhte Detyrosinierung fungiert als Signal für die Bindung von Kinesinmotoren, die bevorzugt entlang von stabilen Mikrotubuli wandern. Unter Colchicineinfluss depolymerisieren die labilen Mikrotubuli zuerst, während die stabilen Mikrotubuli beständiger sind.

Während des Zellzyklus organisieren die Mikrotubuli in hoch dynamischer Weise verschiedene Strukturen: Während die Mikrotubuli in der Interphase in parallelen Bündeln das cortikale Cytoplasma auskleiden (■ Abb. 1.13a), verschwinden diese cortikalen Mikrotubuli in der späten G_2 -Phase des Zellzyklus, wenn sich die Zelle auf die Mitose vorbereitet. Hier tritt eine kurzlebige, aber auffällige Struktur auf, das Präprophaseband, das den Zellkern in Form eines Gürtels umgibt (■ Abb. 1.13b). Kurz darauf bilden sich an den Polen des Zellkerns kappenförmige Mikrotubulistrukturen (■ Abb. 1.13c), aus denen dann, senkrecht zur Ebene des zu diesem Zeitpunkt schon wieder verschwundenen Präprophasebands, die Teilungsspindel entsteht, während sich gleichzeitig die Kernhülle auflöst. Diese Mikrotubulistrukturen legen Achse und Symmetrie der Zellteilung fest. Asymmetrische oder gedrehte Zellteilungen (etwa bei der Entstehung des Spaltöffnungsapparats) werden durch entsprechend veränderte Positionierung oder Lokalisierung des Präprophasebands vorhergesagt.

Die pflanzlichen Mikrotubuli sind also für die Entstehung und Aufrechterhaltung einer Zellachse verantwortlich: Die parallel angeordneten cortikalen Mikrotubuli (■ Abb. 1.14A) organisieren während der Interphase die Orientierung der Cellulosemikrofibrillen in der Zellwand und bestimmen so die Richtung des Zellwachstums, das immer senkrecht zur Richtung dieser Mikrotubuli abläuft. Ebenso sind sie für lokale Verdickungen der Zellwand (Differenzierung von Schraubengefäßen im Xylem, vgl. ■ Abb. 1.70c und 2.26e) verantwortlich. Während der G_2 -Phase des Zellzyklus



■ **Abb. 1.13** Veränderungen der Mikrotubulianordnung vor Beginn der Mitose in Pflanzenzellen bei einer symmetrischen Zellteilung. **a** Interphase mit corticalen Mikrotubuli. **b** Bildung des Präprophasebands vor Eintritt in die Prophase; seine Lage markiert den späteren Spindeläquator und die Zellteilungsebene. **c** Späte Prophase. (Nach M.C. Ledbetter)



■ **Abb. 1.14** Dynamik der Mikrotubuli während des Zellzyklus von Pflanzen. Erläuterungen siehe Text

wandert der Zellkern in die Mitte der Zelle und wird dabei von speichenartig nach außen ziehenden radialen Mikrotubuli transportiert und verankert (■ Abb. 1.14B). Gewöhnlich kommt der Zellkern in der Zellmitte zur Ruhe, bei einer asymmetrischen Teilung ist diese Ruheposition entsprechend verschoben. Am Ende der G_2 -Phase ziehen sich die corticalen Mikrotubuli zu einem Band zusammen, das den Zellkern wie ein Gürtel einschließt (■ Abb. 1.14C). Die Richtung dieses Präprophasebands sagt die Richtung der späteren Querwand

voraus. In der Regel wird das Präprophaseband senkrecht zur längeren Zellachse angelegt, in Fällen, wo sich eine Zelle längs in zwei schmale Tochterzellen teilt (etwa im Cambium oder bei der Bildung der Schließzellen des Spaltöffnungsapparats), liegt das Präprophaseband längs. Senkrecht zum Präprophaseband ziehen Mikrotubuli von den Polen des Zellkerns zur Zellwand, sodass das Bild eines Malteserkreuzes entsteht. Das Präprophaseband existiert nur sehr kurze Zeit, oft nur wenige Minuten, und verschwindet schlagartig, wenn sich die Kernhülle auflöst. Es bleibt jedoch ein Ring von endosomalen Vesikeln zurück. Diese Spur wird nach der Mitose bei der Bildung des **Phragmoplasten** „abgelesen“. Von den Polkappen aus entsteht dann der Spindelapparat, der immer senkrecht zur Richtung des Präprophasebands angelegt wird (■ Abb. 1.14D). Nachdem die Tochterkerne gebildet sind entsteht dort, wo vor der Mitose das Präprophaseband war, eine neue Mikrotubulstruktur, der Phragmoplast, der die Zellplatte organisiert (■ Abb. 1.14E). Diese Mikrotubuli werden zunächst von den MTOCs der Polkappen gebildet, später gehen sie von der Kernhülle der beiden Tochterkerne aus. Sie entstehen anfangs ungerichtet und „erkunden“ den gesamten Raum. Diejenigen Mikrotubuli, die auf die während der späten G_2 -Phase am Präprophaseband lokalisierten endosomalen Vesikel treffen, werden stabilisiert, während die anderen „explorativen“ Mikrotubuli rasch wieder eingeschmolzen werden. So entsteht eine ringförmige Struktur im Äquator zwischen den Tochterkernen,

welche die Zellplatte organisiert. Dieser Ring ist zunächst klein und liegt in der Zellmitte. Durch die Zuführung von Vesikeln mit Zellwandmaterial entlang der Mikrotubuli des Phragmoplasten wird die Zellplatte jedoch schnell größer und wächst zentrifugal (genau entgegengesetzt zur Situation während der Teilung einer Tierzelle, wo sich die Tochterzellen von außen nach innen abschnüren).

Weitere auffällige Mikrotubulistrukturen sind bei unbewandeten Protisten und Spermatozoiden verbreitet, wo stabile Mikrotubuli für die Aussteifung charakteristischer Zellformen und/oder der Verankerung des Geißelapparats verantwortlich sind.

In Zellen von Wirbeltieren werden Actinfilamente und Mikrotubuli noch durch die **Intermediärfilamente** ergänzt. Der Name rührt daher, dass sie mit 10 nm dünner als Mikrotubuli (25 nm), aber dicker als Mikrofilamente (6 nm) sind. Diese Filamente können in Säugerzellen sehr dichte und ausgedehnte Netzwerke ausbilden und sind – außer in konzentrierter Harnstofflösung – unlöslich. Im Gegensatz zu den anderen Cytoskelettelementen sind sie weder dynamisch noch besitzen sie eine Polarität. Durch ihre hohe Zugfestigkeit sind sie für epidermale Gewebe (Horn, Haut und Haar) prädestiniert. Die Untergruppe der Lamine bildet innerhalb der Kernhülle eine formgebende Schicht, die **Kernlamina**. Intermediärfilamente wie auch Kernlamina fehlen bei Pflanzen.

1.2.3.2 Motorproteine und zelluläre Bewegungsvorgänge

Das Cytoskelett ist an zellulären Bewegungsprozessen (Kontraktilität, Motilität) entscheidend beteiligt. Einerseits gibt es wie ein Schienen- oder Straßennetz Bewegungsrichtungen vor. Andererseits bedarf nach dem Prinzip von Newton – numerische Gleichheit von Kraft und Gegenkraft – jedes krafterzeugende Element eines Widerlagers (vgl. Muskulatur und Skelett), eine Funktion, die das Cytoskelett ebenfalls übernimmt. In der Zelle setzen bestimmte ATPasen als chemomechanische Energiewandler (**Motormoleküle**) die durch ATP-Spaltung freigesetzte Energie in Konformationsänderungen um, die gerichtete Bewegungen dieser ATPasen entlang von Elementen des Cytoskeletts bewirken. Bei Eukaryoten sind entsprechend den beiden hauptsächlichen Cytoskelettkomponenten zwei derartige Systeme allgemein verbreitet, das Actomyosinsystem und das Mikrotubuli-Dynein/Kinesin-System.

Partner des Actins bei der Erzeugung von Zug- und Scherkräften im Grundplasma sind **Myosine** (griech. *myon*, Muskel), komplexe ATPasen, die durch Interaktion mit Actin aktiviert werden. Sie bestehen aus einer Kopfreion, wo die ATPase-Aktivität und die Actinbindungsstelle lokalisiert sind, und einer langen Schwanzregion, über die jeweils zwei Moleküle miteinander verknüpft sind und wo auch verschiedene Frachten angehängt sein können. Am besten untersucht wurden die Myosine in den Muskeln von Wirbeltieren und Insekten, diese unter-

scheiden sich jedoch deutlich von pflanzlichen Myosinen. So fehlen Letzteren die leichten Ketten des Muskelmyosins (Myosin II), die für die Calciumbindung verantwortlich sind. Übernommen wird diese Funktion vermutlich von spezifischen Calmodulinen. Auch die auffälligen Myosinfilamente in quergestreiften Muskelfasern sind in Pflanzenzellen nicht zu beobachten. Durch die Spaltung von ATP kommt es zu einer drastischen Konformationsänderung des Myosins: Das Köpfchen klappt um und verschiebt das Mikrofilament um etwa 10 nm. Durch erneute Anlagerung von ATP wird die Bindung zum Actinfilament gelöst und das Köpfchen unter ATP-Spaltung wieder aufgerichtet. Die zyklische Wiederholung dieses Prozesses während der Muskelkontraktion führt dazu, dass sich das Myosin am Actin entlang bewegt. Im Muskel werden die Myosinfilamente so zwischen die Actinfilamente geschoben, sodass sich der Muskel verkürzt (**Gleitfasermmodell**, engl. *sliding filament model*). In Pflanzenzellen werden hingegen Frachten wie Vesikel oder Organellen (Mitochondrien, Peroxisomen, aber auch Plastiden) an Actin entlang bewegt. Auch molekular unterscheiden sich die Myosine der Pflanzen stark von ihren tierischen Verwandten und werden aufgrund ihrer Sequenzunterschiede in eigene Klassen eingeteilt.

Im Gegensatz zur Situation beim Actomyosinsystem basieren mikrotubuliabhängige Bewegungen auf zwei verschiedenen Klassen von Motorproteinen: den Dyneinen und den Kinesinen (griech. *dynamis*, Kraft, und *kinesis*, Bewegung). Hoch molekulare, komplexe **Dyneine** sind vor allem in Geißeln und Cilien zu finden (vgl. ▶ Abschn. 1.2.3.3). Im Verlauf der pflanzlichen Evolution sind die Dyneine jedoch verloren gegangen, was damit zusammenhängt, dass die Fortpflanzung über begeißelte Spermatozoide durch eine Befruchtung mithilfe eines Pollenschlauchs ersetzt wurde. Dyneine bewegen sich immer zum Minus-Ende eines Mikrotubulus. Dagegen sind die meisten **Kinesine** Plus-Motoren. Kinesine wurden zunächst in den Achsenfortsätzen von Nervenzellen entdeckt, ihr Vorkommen ist inzwischen aber auch in Pflanzen gut belegt. Parallel zum Verlust der Dyneine diversifizierte sich bei den Pflanzen spezielle Kinesinklassen (Klasse-XIV-Kinesine). Bei diesen Kinesinen befindet sich die Motordomäne am Carboxyl- statt am Aminoterminus und sie bewegen sich (so wie die Dyneine) als Minus-Motoren. Innerhalb dieser Klasse sind die KCH-Kinesine besonders auffällig – sie können Actinfilamente und Mikrotubuli verknüpfen und kommen nur bei den Landpflanzen vor.

Zelluläre Bewegungen kommen in manchen Fällen ohne die beschriebenen Systeme unabhängig von Motorproteinen zustande. So kann schon die bloße Verlängerung bzw. Verkürzung von Mikrofilamenten oder Mikrotubuli Bewegungsvorgänge bzw. eine Veränderung der Zellgestalt bewirken. Dieser Mechanismus ist etwa für die Funktion der mitotischen Spindel während der Zellteilung von zentraler Bedeutung.

1.2.3.3 Geißeln und Centriolen

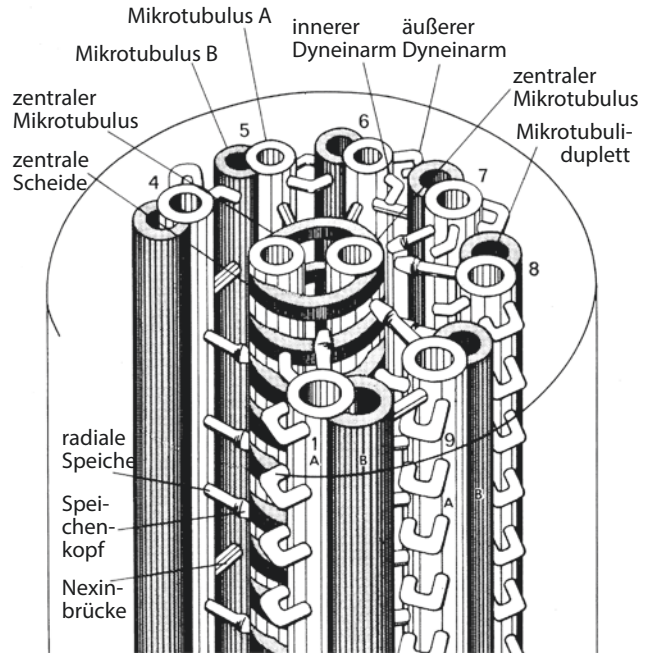
Wo immer in Eukaryoten **Geißeln** (auch **Flagellen** von lat. *flagellum*, Peitsche) vorkommen, ist ihre innere Struktur im Wesentlichen identisch. Es handelt sich um

eine der am höchsten konservierten zellulären Strukturen überhaupt. Bei Pflanzen findet man Geißeln bei vielen Grünalgen (*Chlamydomonas*, *Volvox*), aber auch bei Gameten vielzelliger Algen oder den Spermatozoiden von Moosen, Farnen und primitiven Gymnospermen.

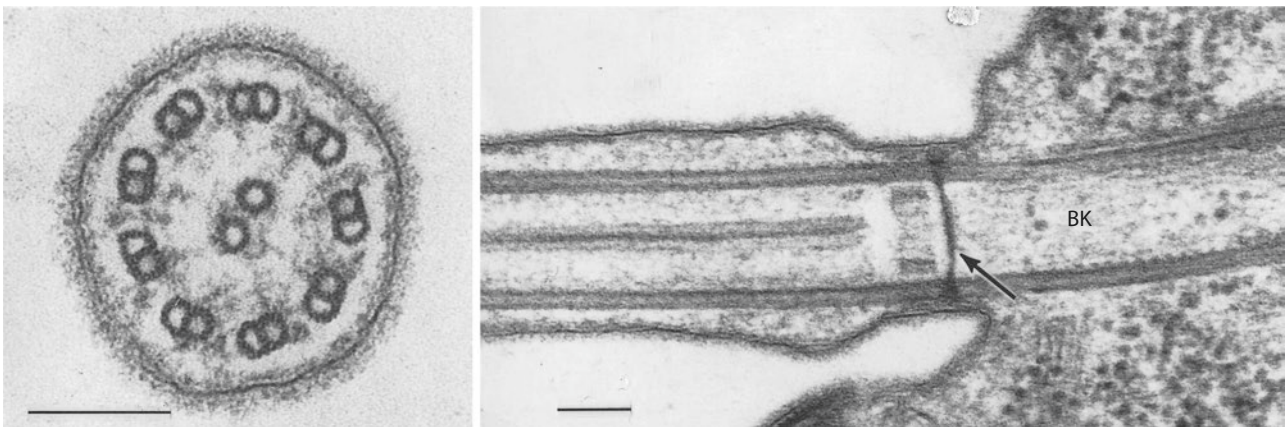
Auch die bei Tieren weit verbreiteten **Cilien** sind grundsätzlich wie Geißeln aufgebaut. Cilien sind aber kürzer als Geißeln und werden von einzelnen Zellen stets in großer Zahl gebildet (Flimmerepithelzellen; Einzeller: Ciliaten). Die Fortbewegungsorganellen der Bakterien werden ebenfalls als Geißeln bezeichnet. Dies ist aber irreführend, da sie völlig anders aufgebaut sind als eukaryotische Geißeln und sich aufgrund ganz anderer molekularer Mechanismen bewegen – während sich eukaryotische Geißeln innerhalb der Plasmamembran befinden und sich durch die Verschiebung von Mikrotubuli bewegen, sitzen die bakteriellen Geißeln außerhalb und werden als Ganzes durch Rotation bewegt (► Abschn. 19.1.1).

Im Geißelquerschnitt erkennt man eine charakteristische Anordnung von 20 Mikrotubuli (► Abb. 1.15), die als **9×2+2-Muster** bezeichnet wird. Zwei zentrale Einzel-tubuli (Singulets) sind von einem Kranz von neun Doppeltubuli (Dupletts) symmetrisch umgeben. Man unterscheidet zwei Tubulustypen – den A- und den B-Tubulus. Der B-Tubulus, der einen größeren Durchmesser hat als der A-Tubulus, sitzt mit elf Protofilamenten dem A-Tubulus seitlich an und benutzt vier von dessen Protofilamenten mit, wodurch auch er zur kompletten (allerdings nicht runden) Röhre wird. Singulets und Dupletts bilden mit zahlreichen weiteren Proteinen das komplexe Cytoskelett der Geißeln (► Abb. 1.16), das zusammen mit Dyneinmotormolekülen auch für den Geißelschlag verantwortlich ist. Die motile Gesamtstruktur, die die Geißel mit einem Durchmesser von 200 nm längs durchzieht, wird als **Axonem(a)** bezeichnet (griech. *áxon*, Achse, und *néma*, Faden).

Geißeldyneine sind komplexe, tubulinaktivierte ATPasen. Dyneine der äußeren Arme besitzen z. B. eine Masse von knapp 2 MDa und bestehen aus ca. zwölf verschiedenen Untereinheiten (Protomeren). Die Dyneinarme, die von den A-Tubuli ausgehen und zu benachbar-



► **Abb. 1.16** Schema der Feinstruktur einer Eukaryotengeißel. Die beiden zentralen Mikrotubuli (Singulets) sind von einer helikalen Scheide umgeben, mit der die peripheren Dupletts über elastische Radialspeichen verbunden sind. Jeweils ein A-Tubulus (hell) jedes Dupletts ist durch elastische Proteinarme (Nexin) locker mit dem B-Tubulus (dunkel) des benachbarten Dupletts verbunden. Jeder A-Tubulus trägt außerdem innere und äußere Dyneinarme. Die Zählung der Dupletts beginnt in der Symmetrieebene der Singulets mit 1 und läuft in Richtung der Dyneinarme um (beim Blick von der Geißelbasis zum freien Ende im Uhrzeigersinn). Zur besseren Übersichtlichkeit wurden nur sieben Dupletts gezeichnet; die Lücke – Duplett 2 und 3 – ist durch die Unterbrechung des Kreises gekennzeichnet, der die Lage der Plasmamembran markiert. (Nach P. Satir)



► **Abb. 1.15** Geißel von *Scourfieldia caeca*, einem grünen Flagellaten; links quer, rechts Geißelbasis mit Basalkörper längs. Die zentralen Singulets, die dem Basalkörper fehlen, beginnen erst 100 nm außerhalb dieser Platte. Im Querschnitt sind Dyneinarme und Radialspeichen andeutungsweise zu erkennen (Maßstäbe 0,1 µm). – BK Basalkörper; Pfeil: Basalplatte am Übergang vom BK zur Geißel. (EM-Aufnahmen: M. Melkonian)

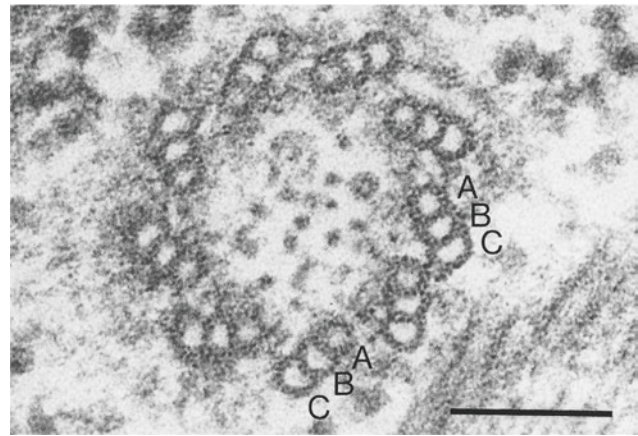
ten B-Tubuli reichen, können benachbarte Dupletts gegeneinander verschieben, analog zu dem oben beschriebenen Gleitfasermodell (► Abschn. 1.2.3.2). Radialspeichen und Nexinbrücken wandeln die daraus resultierenden Längsverschiebungen innerhalb des Axonems in die charakteristischen Krümmungsbewegungen der Geißel um.

Die Oberfläche von Geißeln ist vielen organismusspezifischen Modifikationen unterworfen. **Flimmergeißeln** z. B. sind dicht mit seitlich abstehenden, filamentösen **Mastigonemen** besetzt, wodurch sich ihr Reibungswiderstand erhöht (■ Abb. 19.26a, b und 19.54f; griech. *mástix*, Geißel). Die Mastigonemen werden im Golgi-Apparat als geformtes Sekret gebildet und gelangen durch gerichtete Exocytose an die Geißeloberflächen. **Peitschengeißeln** sind durch eine verlängerte, dünne Spitzenzone ausgezeichnet, in die nur die beiden Singulettmikrotubuli ragen. Jede Geißel ist mit einem **Basalkörper** im corticalen Cytoplasma verankert, der einen kurzen Zylinder aus neun Mikrotubulitripletts (Tubuli A, B und C) ohne zentrale Singulett enthält (■ Abb. 1.15 und 1.16). Der Basalkörper ist senkrecht zur Zelloberfläche orientiert, übernimmt MTOC-Funktion (► Abschn. 1.2.3.2) und fungiert auch als Bildungszentrum, von dem die Geißel auswächst. Die Plus-Enden der Mikrotubuli befinden sich dementsprechend an der Geißelspitze. In der Übergangszone zwischen Basalkörper und Geißelschaft enden die C-Tubuli und beginnen die beiden Singulett. A- und B-Tubuli des Basalkörpers setzen sich in den neun Dupletts des Axonems fort.

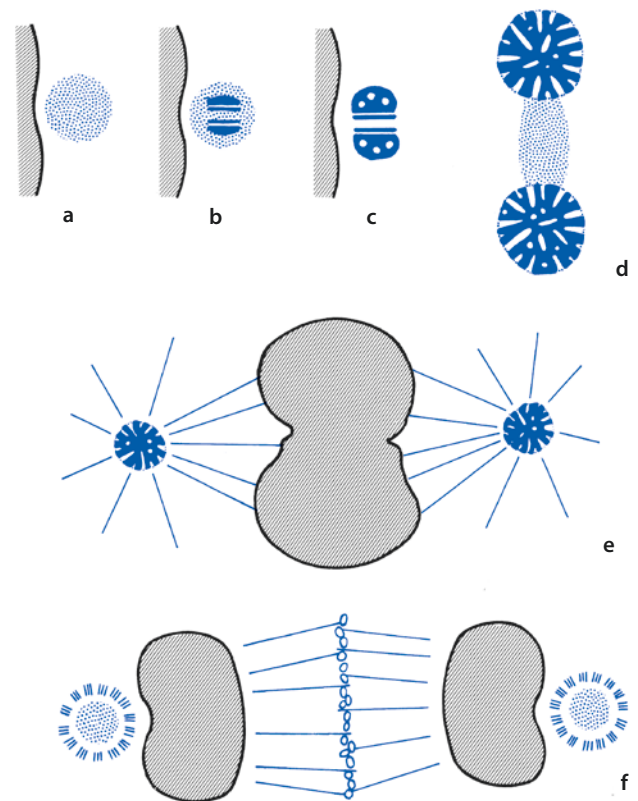
Die Struktur der Basalkörper ist identisch mit der von **Centriolen**, die in vielen eukaryotischen Zellen in der Regel paarweise und rechtwinklig angeordnet vorliegen, in Pflanzenzellen aber fehlen (■ Abb. 1.12). Basalkörper und Centriolen entstehen nicht durch Teilung aus ihresgleichen, sondern werden bei Bedarf neu gebildet. Das geschieht interessanterweise häufig in unmittelbarer Nachbarschaft bereits existierender Basalkörper/Centriolen, von denen offenbar eine Induktionswirkung ausgeht. Die Basalkörper hoch entwickelter Farnpflanzen und von Gymnospermen, die begeißelte Spermatozoide ausbilden (in manchen Fällen mit über 1000 Geißeln pro Zelle), entstehen in einem sphärischen Bereich von verdichtetem Cytoplasma, dem **Blepharoplasten** (griech. *blépharon*, Wimper; ■ Abb. 1.17 und 1.18).

1.2.4 Zellkern – Werkzeug für Vererbung und Steuerung

Die genetische Information aller pro- und eukaryotischen Zellen ist in der Nucleotidsequenz von DNA-Molekülen verschlüsselt. In eukaryotischen Zellen findet man DNA vor allem im Zellkern, doch auch Mitochondrien und Plastiden enthalten kleinere DNA-Mengen. Der Zellkern ist das wichtigste Kompartiment für die Speicherung und Vermehrung (Replikation) von DNA sowie für die Synthese (Transkription) und die Reifung

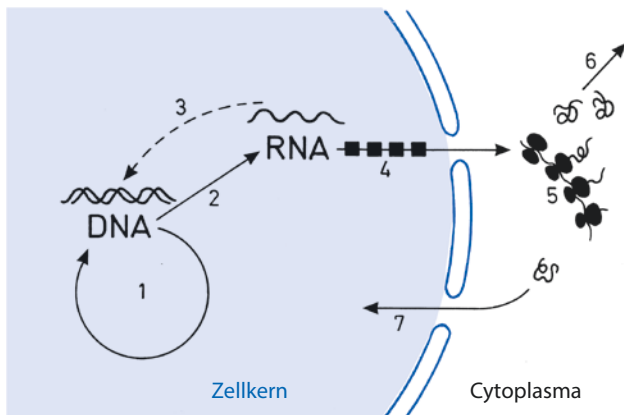


■ **Abb. 1.17** Basalkörper von *Scourfieldia*, quer. In den Mikrotubulitripletts sind stellenweise Protofilamente im Querschnitt erkennbar. Nur die innersten Mikrotubuli der Tripletts (A) sind komplett; die beiden schräg nach außen angesetzten Mikrotubuli (B und C) sind rinnenförmig, sie haben einige Protofilamente mit dem jeweils nächstinneren Mikrotubulus gemein. Die C-Mikrotubuli enden an der Basalplatte, A und B setzen sich in den Dupletts des Geißelaxonems fort (Maßstab 0,1 µm). (EM-Aufnahme: M. Melkonian)



■ **Abb. 1.18** Neuentstehung von Centriolen/Basalkörpern während der Mikrosporangogenese des Wasserfarms *Marsilea*. **a–c** In einer verdichteten Plasmapartie nahe der Kernhülle bildet sich eine bisymmetrische Struktur, aus der zwei Blepharoplasten (farbig) entstehen. Diese trennen sich vor der nächsten Kernteilung (**d**) und besetzen die beiden Spindelpole (**e, f**). Aus jedem Blepharoplasten gehen schließlich etwa 150 Basalkörper des begeißelten Spermatozoids hervor. Der Gesamtvorgang zeigt, dass die komplexe, charakteristische Struktur von Centriolen bzw. Basalkörpern *de novo* entstehen kann. (Nach P.K. Hepler)

(Prozessierung) von RNA. Alle diese Prozesse finden im **Karyoplasma (Nucleoplasma)** statt, das vom umgebenden Cytoplasma durch die doppelschichtige **Kernhülle** (engl. *nuclear envelope*) abgegrenzt ist. Sie entspricht einer hohlkugeligen ER-Zisterne und wird durch zahlreiche **Porenkomplexe** unterbrochen, die den Austausch von Makromolekülen zwischen Karyoplasma und Cytoplasma ermöglichen. Der Zellkern ist also kein Kompartiment, auf keinen Fall sollte man ihn als membranumschlossene Blase auffassen, da mRNAs, tRNAs und Präribosomen, die im Kern in Nucleoli (Singular: Nucleolus) gebildet werden, den Kernraum durch diese Porenkomplexe verlassen können, ohne eine einzige Membranpassage absolvieren zu müssen. Umgekehrt gelangen die im Cytoplasma gebildeten Kernproteine ebenfalls ohne Membranpassage durch die Kernporen in das Karyoplasma (■ Abb. 1.19 und 6.11). Der Kernraum ist frei von Membranen und enthält, eingebettet in die **Kernmatrix** (ein Gel aus Strukturproteinen), mehrere DNA-Riesenmoleküle mit Längen im Zentimeter- bis Dezimeterbereich (10–100 Mrd. Da). Während der Zellteilung werden die einzelnen DNA-Stränge als einzelne Chromosomen lichtmikroskopisch sichtbar. Die im Zellkern enthaltene DNA liegt zusammen mit einer Vielzahl von Proteinen in einem Komplex



■ **Abb. 1.19** Das zentrale Dogma der Molekularbiologie wurde von Francis Crick formuliert und besagt, dass der Informationsfluss in der Zelle von DNA über RNA zu Proteinen erfolgt: „DNA macht RNA macht Protein“. DNA dient aber nicht nur als Matrize für die RNA-Synthese (Transkription, 2), sondern instruiert auch ihre eigene Vermehrung (Replikation, 1). Inzwischen wurde gezeigt, dass RNA auch in DNA-Sequenzen rückübersetzt werden kann (reverse Transkription 3, unter anderem praktiziert von RNA-Viren, die ihr Genom in die DNA der Wirtszelle einbauen), wodurch das zentrale Dogma etwas relativiert wird. In Eucyten laufen diese Vorgänge und die Prozessierung neu gebildeter RNA (4) innerhalb der von Porenkomplexen durchsetzten Kernhülle ab. Ausgehend von den im Kern gebildeten und prozessierten RNAs werden im Cytoplasma an Ribosomen Proteine synthetisiert (Translation, 5). Viele Proteine steuern als Enzyme den Stoff und Energiewechsel der Zelle (6), andere wandern in den Zellkern (7), wo sie beispielsweise an der Replikation und der Transkription mitwirken oder als DNA-Begleitproteine wichtige Funktionen im Chromatin übernehmen

vor, der **Chromatin** genannt wird. Chromatin ist reich an basischen Histonproteinen, die DNA-Moleküle in unterschiedlich kompakte, dreidimensionale Strukturen verpacken können und dafür verantwortlich sind, dass Chromatin in unterschiedlich verdichteten (kondensierten) Formen vorliegt: Die DNA im aufgelockerte **Euchromatin** ist aktiv – sie wird entweder gerade in RNA übersetzt (**Transkription**) oder in Vorbereitung auf die nächste Kernteilung kopiert (**Replikation**). Im Gegensatz dazu ist das genetisch inaktive Chromatin stark kondensiert (**Heterochromatin**). Im Verlauf der Kernteilung verdichtet sich das Chromatin besonders stark zu einer kompakten Transportform, den **Chromosomen**. Wenn ein Gen aktiviert wird, muss die DNA zunächst von der Histonhülle befreit werden, das Chromatin wird also dekodensiert. Danach binden **Transkriptionsfaktoren** an spezifische DNA-Sequenzen und regulieren die Bindung von RNA-Polymerasen, die dann mRNA bilden. In verschiedenen Zellen eines Organismus werden unterschiedliche Gene aktiviert, wodurch sich diese Zellen während der Entwicklung immer stärker voneinander unterscheiden (**Zelldifferenzierung**). Diese Zelldifferenzierung wird also vor allem auf eine **differenzielle Genexpression** zurückgeführt.

Die meisten der molekularen und übermolekularen Strukturkomponenten des Zellkerns bilden sich neu, wenn sie benötigt werden, und verschwinden dann wieder, wenn ihre Funktion erfüllt ist. Beispielsweise zerfallen Kernhülle und Nucleoli in den Anfangsstadien der Kernteilung und werden erst in deren Endphase neu gebildet. Auch die Kernmatrix verändert ihren molekularen Aufbau während der charakteristischen Abfolge von Zuständen im Verlauf von Interphase und Zellteilung, die man als des **Zellzyklus** bezeichnet. Die einzige Kernkomponente, die – einmal durch Replikation entstanden – unter normalen Umständen keinem Um- oder Abbau unterliegt, ist die DNA selbst.

1.2.4.1 Chromatin

Der größte Teil der nucleären DNA ist mit Histonen komplexiert. **Histone** sind bei Eukaryoten allgemein verbreitet. Eine Ausnahme machen nur die Dinoflagellaten (■ Abb. 19.39), deren Chromatin abweichend organisiert ist (diese Einzeller sind auch in anderer Hinsicht atypische Eukaryoten). Das Massenverhältnis Histon/DNA ist ungefähr 1:1. Histone kommen in der lebenden Zelle nur in Verbindung mit DNA vor. Sie werden synchron mit der DNA in der Replikationsphase des Zellzyklus (**S-Phase**) im Cytoplasma synthetisiert und sofort in den Zellkern verlagert. Durch die zahlreichen Phosphatreste ist die DNA stark negativ geladen und zieht die durch zahlreiche Lysin- und Argininreste positiv geladenen Histone elektrostatisch an (■ Tab. 1.1). Die Histone wurden während der Evolution nur wenig verändert und werden in verschiedene Typen (H1–4)

Tab. 1.1 Übersicht über die fünf Grundtypen der Histone

Bezeichnung	Molekülmasse (kDa)	Molekülform
H1	>24	mit zwei positiv geladenen Fortsätzen (C- u. N-Terminus) und globulärer Zentraldomäne
H2A	~18,5	globulär, N-terminale Domäne mit Häufung
H2B	~17	basischer Aminosäurereste;
H3	15,5	seitlich abstehend
H4	11,5	

eingeteilt: Je höher die Nummer, umso geringer der Lysin-, aber umso höher der Argininanteil. Vor allem die Histone H3 und H4 sind evolutionär hoch konserviert. Allerdings können Histone in verschiedenen Zellen oder Zuständen einer Zelle unterschiedlich modifiziert sein. Diese posttranslationalen, reversiblen Modifikationen wie Acetylierung oder Phosphorylierung spielen für die differenzielle Genexpression eine wichtige Rolle (► Abschn. 9.1). Die verschiedenen Histonklassen sind in der Regel in kleinen Genfamilien organisiert; von einem Histon gibt es leicht unterschiedliche Isotypen, die abhängig vom Differenzierungszustand der Zelle ebenfalls unterschiedlich aktiviert sein können.

Die vier strukturell und hinsichtlich ihrer Größe sehr ähnlichen **Core-Histone** (engl. *core*, Kern) H2A, H2B, H3 und H4 aggregieren auch in Abwesenheit von DNA zu flach-elliptischen Quartärstrukturen oder Komplexen. In diesen Komplexen mit einem Durchmesser von 10 nm und einer Dicke von 5 nm sind von jeder beteiligten Histonsorte zwei Moleküle vorhanden. Insgesamt besteht der Komplex also aus acht Bausteinen und wird daher als **Histonoktamer** bezeichnet. Jeweils ein 145 bp langer DNA-Sequenzabschnitt ist flach um den Rand eines Histonoktamers gewunden, der besonders reich an positiv geladenen Aminosäurenresten ist (► Abb. 1.20). Die DNA-Doppelhelix legt sich in knapp zwei Windungen um das Histonoktamer. Der etwa 60 bp lange, freie DNA-Sequenzabschnitt zwischen zwei benachbarten Histonoktamern, der als **Linker** (Verbindungsstück) bezeichnet wird, ist bevorzugter Angriffsort für Endonucleasen. Endonucleasen setzen daher Nucleohistonkomplexe mit einheitlicher Partikelmasse frei, die **Nucleosomen**. Stark aufgelockertes, H1-freies Chromatin zeigt auf EM-Aufnahmen ein typisches Perlenkettenmuster (► Abb. 1.21a), das durch Linker verbundene Nucleosomen repräsentiert.

Das Bild ändert sich, wenn H1 zugegeben wird. Dieses Histon ist deutlich größer (► Tab. 1.1) und phylogenetisch weniger stark konserviert. Es ist nicht am Aufbau der Histonoktamere beteiligt, also nicht Teil

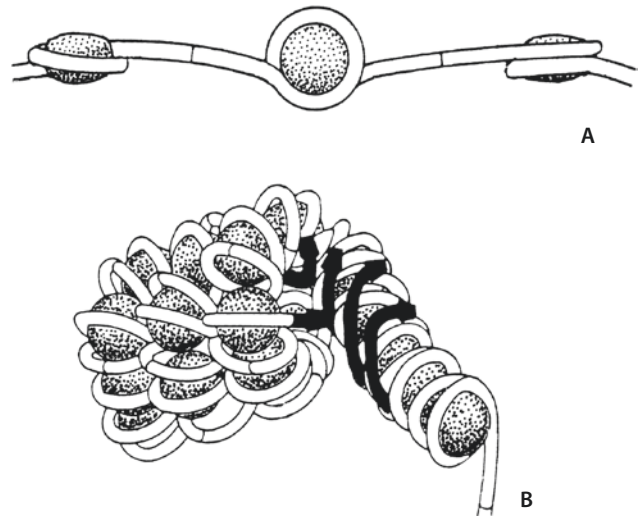
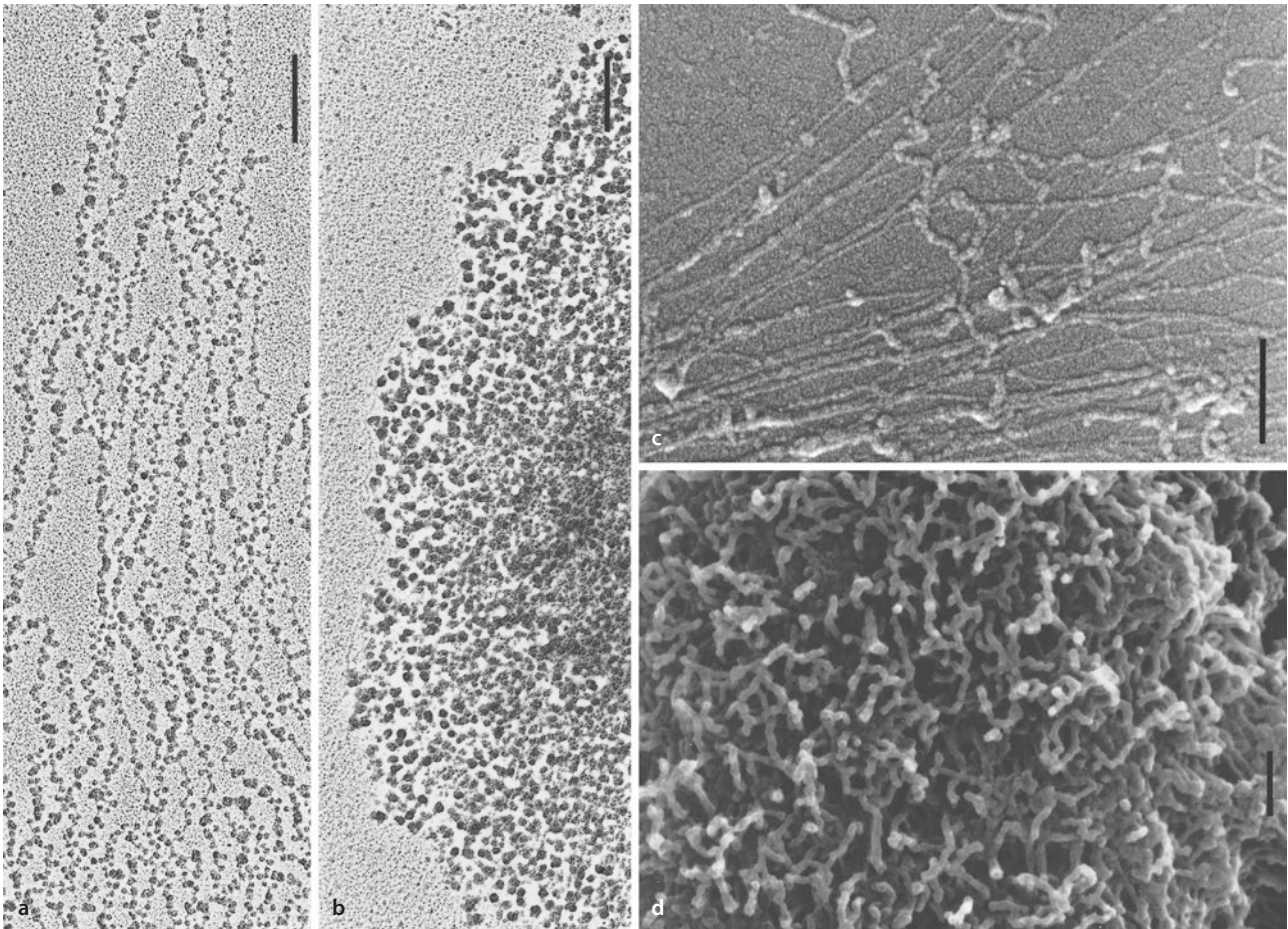


Abb. 1.20 Nucleosomen, schematisch. **A** Perlenkettenmuster. Drei Histonoktamere (punktiert) von DNA-Doppelhelix in Links-schrauben umwunden, über DNA-Linker verbunden; Querstriche: Schnittpunkte von Nucleasen aus *Micrococcus*. **B** Supranucleosomale Strukturen, die sich unter Vermittlung von H1 (schwarz) bilden; rechts Nucleofilament, links Chromatinfibrille (hier H1 nicht eingezeichnet). (Nach A. Worcel und C. Benyajati)

des Nucleosoms selbst. H1 wird auch als **Linkerhiston** bezeichnet und vermag Nucleosomen durch Bindung an Linker-DNA und an DNA-besetzte Histonoktamere eng zu verknüpfen. Diese Bindung ist nicht von der DNA-Sequenz abhängig und bewirkt eine Kondensation des Chromatins, das mit zunehmendem H1-Gehalt immer kompakter wird (► Abb. 1.21b–d). Dabei bilden sich zunächst Nucleofilamente (Elementar- oder Basisfibrillen) mit einem Querdurchmesser von 10 nm. Durch eine weitere Verdichtung entstehen verschiedene Überstrukturen wie Solenoide (Helixstrukturen mit sechs Nucleosomen pro Windung; griech. *solén*, Röhre), weniger regelmäßige Zickzackstrukturen oder gar supra-nucleosomale Granula (Nucleomere). Die maximale H1-abhängige Kondensation führt zu Ausbildung einer etwa 35 nm dicken Fadenstruktur, der Chromatinfibrille. Die in einer Chromatinfibrille enthaltene DNA-Doppelhelix wäre in ausgedehnter Form mehr als 20-mal länger.

Noch höhere Grade der Chromatinkompaktierung treten vor allem während der Kernteilung auf. Verschiedene Nicht-Histon-Proteine bilden dann ein fadenförmiges Chromosomenskelett, von dem die Chromatinfibrillen als seitliche Schleifen nach allen Richtungen abstehen. So entstehen die bereits im Lichtmikroskop sichtbaren **Chromonemen** mit Querdurchmessern von 0,2 μm (► Abschn. 1.2.4.5). Das Extrem der Chromatinkompaktierung wird schließlich durch immer weitergehende Verdrillung während der Bildung von Metaphasechromosomen im Verlauf der Mitose und, noch ausgeprägter, während der Meiose erreicht (► Abb. 1.22, 1.23, 1.28d, und 1.33F–H).

Im Gegensatz zum inaktiven, kondensierten Chromatin ist **aktives Chromatin** maximal aufgelockert. Hier sind die Histone durch Methylierung, Acetylierung oder Phosphorylierung modifiziert, was ihre Affinität zu DNA vermindert. Die DNA selbst wird dadurch leichter zugänglich für Transkriptionsfaktoren und die für



■ **Abb. 1.21** Isoliertes Chromatin aus Kernen der Küchenzwiebel *Allium cepa* (a, b) und der Gerste *Hordeum vulgare* (c, d; im Raster-EM). a Perlenkettenmuster von expandiertem Chromatin bei niedriger Ionenstärke. b Supranucleosomale Strukturen bei physiologischer Salzkonzentration (100 mM NaCl). c Chromatin nach Behandlung mit Proteinase K; neben nackter DNA sind Nucleofilamente und Chromatinfibrillen sichtbar. d Nach kurzer Proteinase-K-Behandlung treten an einem Chromosom vor allem Chromatinfibrillen hervor. (Maßstäbe 0,2 µm.) (a, b EM-Aufnahmen: H. Zentgraf; c, d REM-Bilder: G. Wanner)

Replikation und Transkription benötigten Enzyme. Die **Transkriptionsfaktoren (TF)** binden hier sequenzspezifisch an DNA-Bereiche und leiten deren Transkription ein (► Abschn. 5.2). Gleichzeitig ist das aktive Chromatin besonders empfindlich für DNase I.

1.2.4.2 Chromosomen und Karyotyp

Die Bezeichnung Chromosom (abgeleitet von griech. *chróma*, Farbe, wegen der guten Färbbarkeit kondensierter Chromosomen) wurde vor über 100 Jahren von dem Anatom Heinrich Wilhelm Waldeyer eingeführt. Seit die DNA als Träger der genetischen Information erkannt ist, wird der Begriff häufig auf alle gentragenden Strukturen angewandt, sodass auch bei Plastiden und Mitochondrien, bei Bakterien und sogar bei Viren von Chromosomen gesprochen wird, obwohl hier keine Histone beteiligt sind und die charakteristischen Zyklen aus Kondensation und Dekondensation fehlen. Die Gesamtheit aller Gene bzw. gentragenden Strukturen von Organismen wird als deren **Genom**

bezeichnet (griech. *génos*, Herkunft, Gattung). Neben dem Kerngenom gibt es in Pflanzenzellen noch die deutlich kleineren Genome in den Plastiden und den Mitochondrien (► Abschn. 4.6, 4.7, und 4.8, ■ Abb. 4.9). Genomgrößen werden heute meist durch die Gesamtzahl der DNA-Basenpaare angegeben (■ Tab. 4.1).

Der in den Zellkernen enthaltene Chromosomenbestand von Vertretern einer Art wird als **Karyotyp** bezeichnet. Er lässt sich cytologisch als Muster seiner Chromosomen darstellen, die in Größe, Gestalt und Anzahl für einen Organismus charakteristisch sind (**Karyogramm**). Die Zahl gleichartiger Chromosomensätze in einem Zellkern bestimmt seinen **Ploidiegrad n**. Zellkerne mit nur einem Chromosomensatz sind haploid (1n; griech. *haplós*, einfach). Die Kerne somatischer (Gewebe-) Zellen von Farn- und Samenpflanzen sind überwiegend diploid (2n). Kerne außergewöhnlicher Größe sind meistens polyploid und enthalten mehrere bis viele Kopien des Gen- und Chromosomenbestands der be-

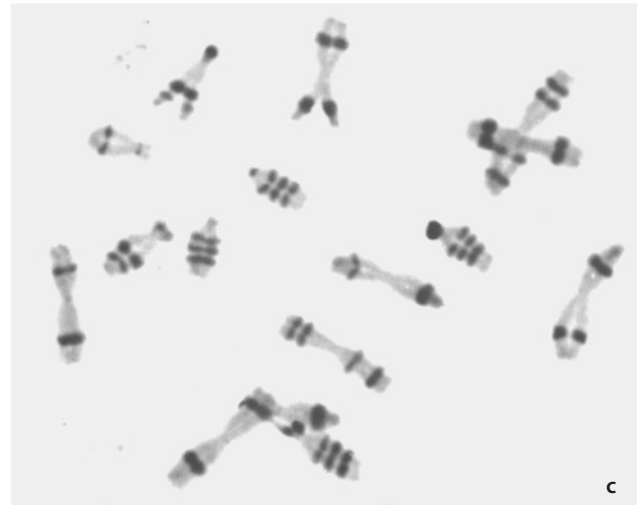
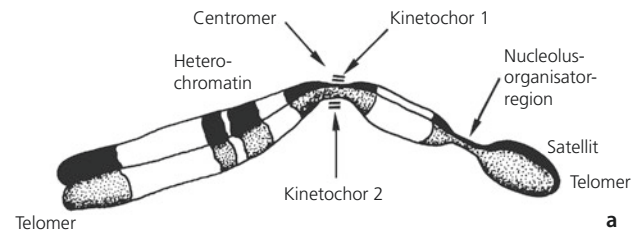


■ **Abb. 1.22** Schraubenstruktur von Meiosechromosomen bei *Tridacanta virginiana* (4050 ×). (Nach C.D. Darlington und L.F. La Cour)

treffenden Art. Auch künstlich polyploid gemachte Zellkerne sind in der Regel vergrößert. Die DNA-Gesamtmenge des haploiden Genoms, angegeben in Pikogramm ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$), wird als **C-Wert** bezeichnet. Folgende C-Werte wurden für verschiedene Organismen gemessen: *Escherichia coli* (Bakterium) 0,004; Tabak 1,6; Mais 7,5; manche Lilienarten, die freilich polyploid sind >30 (zum Vergleich: *Homo sapiens* 3,5).

Um ein Karyogramm zu erstellen, wird die Metaphase als Kernteilungsstadium, in dem die Chromosomen maximal kondensiert sind, zugrunde gelegt (► Abschn. 1.2.4.5), wobei vor allem Länge der Chromosomenarme, Lage des Centromers, Vorhandensein oder Fehlen einer Nucleolusorganisatorregion und heterochromatische Abschnitte im Zentrum stehen (■ Abb. 1.23). Das **Centromer** (primäre Einschnürung; griech. *kéntron*, Mittelpunkt, und *méros*, Teil) ist die dünnste Stelle eines Chromosoms. Dort setzen die Mikrotubuli der Kernteilungsspindel an (■ Abb. 10.1), sodass das Chromosom hier während der Chromosomenverschiebung im Verlauf der Kernteilung abgewinkelt wird. Diese Mikrotubuli enden in einer abgeflachten oder halbkugeligen, mehrschichtigen Struktur, die dem Centromer seitlich angelagert ist und als **Kinetochor** bezeichnet wird (griech. *kinesis*, Bewegung; *chóros*, Ort). Das Centromer gliedert das Chromosom in zwei Arme, deren relative Länge ähnlich bis sehr verschieden sein kann. Das Verhältnis des kurzen Chromosomenarms zur Gesamtlänge (**Centromerindex**) ist eine wichtige Kenngröße für die korrekte Zuordnung eines Chromosoms bei der Erstellung eines Karyogramms.

Die Chromosomenenden werden als **Telomere** bezeichnet. Sie vermitteln die Anheftung von Chromosomen an die Kernhülle und enthalten hochrepetitive Sequenzen, die im Verlauf der Replikationen verkürzt werden und durch die Aktivität eines besonderen Enzyms, der



■ **Abb. 1.23** Chromosomen treten während der Kernteilungen (z. B. in der Meta- und Anaphase der Mitose) als kompakte Einheiten hervor. Für diese wurde ursprünglich der Begriff „Chromosom“ geprägt. **a** Schema eines SAT-Chromosoms mit den beiden Telomeren, dem Centromer mit den beiden Kinetochoren (Ansatzstellen der Mikrotubuli des Spindelapparats), Bändern von Heterochromatin (zusätzlich Regionen an den Telomeren und im Centromerbereich) sowie der für SAT-Chromosomen charakteristischen Nucleolusorganisatorregion (NOR) und einem heterochromatischen Satelliten. Das Chromosom ist längs in zwei Chromatiden gespalten, die später zu Tochterchromosomen werden. **b** Anaphasechromosomen der Gerste *Hordeum vulgare*, doppelte Chromosomenzahl $2n = 28$, pro Satz zwei SAT-Chromosomen, die vier NOR und vier Satelliten der beiden Sätze von Tochterchromosomen sind gut erkennbar (1880 ×). **c** Chromosomensatz von *Anemone blanda* ($2n = 16$); heterochromatische Banden (außer am Centromer) durch Färbung hervorgehoben (600 ×). (b Präparat: R. Martin; REM-Bild: G. Wanner; c LM-Aufnahme: D. Schweizer)

RNA-haltigen Telomerase, in einigen Zelltypen erhalten bleiben. Chromosomen können leicht miteinander fusionieren, was etwa nach Chromosomenbrüchen oft beobachtet wird (► Abschn. 8.2). Solche Fusionen werden unter Normalbedingungen durch die Telomere verhindert. Bei Tierzellen spielt die Länge der Telomere eine Rolle für die Alterung.

Mikroverdaunungsversuche bestätigen die These, dass jedes Chromosom einen einzelnen durchgehenden DNA-Strang (nach der Replikation in der S-Phase des Zellzyklus zwei Stränge) enthält (**Einstrangmodell**).

Die Fortschritte der DNA-Sequenzierung erlauben es, in immer höherer Geschwindigkeit Nucleotidsequenzen ganzer Chromosomen und Genome zu ermitteln und in öffentlichen Datenbanken verfügbar zu machen. Dadurch konnten viele Details der **Sequenzorganisation** von Chromatin aufgeklärt werden, wie die relative Lage und besondere Struktur von Startstellen (Origins) der DNA-Replikation oder die Verteilung von codierenden und nichtcodierenden Sequenzabschnitten, von Exons und Introns, sowie von regulatorischen und repetitiven Sequenzen. Darauf wird in ► Kap. 4 und 5 in Teil II (Genetik) genauer eingegangen.

1.2.4.3 Nucleoli und Präribosomen

Die **Nucleoli** (Kernkörperchen) sind die Orte, wo die Vorläufer der Ribosomen gebildet werden. Aufgrund ihres hohen Proteingehalts sind die Nucleoli in Zellkernen schon lichtmikroskopisch als kompakte, dichte Strukturen gut zu erkennen. Jeder Nucleolus ist von einem Abschnitt chromosomaler DNA durchzogen. Hier sind die verschiedenen ribosomalen RNAs (rRNAs) mit Ausnahme der 5S-rRNA in repetitiven Genen codiert. Dieser Abschnitt auf der DNA wird als **Nucleolusorganisationsregion** (NOR oder rDNA) bezeichnet. Chromosomen mit einer NOR werden als Satelliten- oder SAT-Chromosomen bezeichnet. Während der Metaphase ist die NOR als dünne Stelle eines Chromosomenarms lichtmikroskopisch erkennbar (► Abb. 1.23a, b), die gelegentlich als sekundäre Einschnürung von der primären (dem Centromer) unterschieden wird. In jedem haploiden Chromosomensatz ist mindestens ein SAT-Chromosom vorhanden. Bei Pflanzen entspricht der Ploidiegrad von Zellkernen normalerweise der Anzahl der Nucleoli. Kerne diploider Pflanzenzellen enthalten also typischerweise zwei Nucleoli, während in triploiden Kernen des Samennährgewebes von Angiospermen drei dieser Strukturen zu finden sind.

Die NOR ist ein Beispiel für einen moderat repetitiven Abschnitt der DNA-Sequenz. Zahlreiche weitgehend identische Transkriptionseinheiten liegen tandemartig angeordnet hintereinander und sind durch kürzere, nichtcodierende Regionen (Spacer) voneinander getrennt. Jede Transkriptionseinheit enthält die Gene für die großen rRNAs in immer gleicher Reihen-

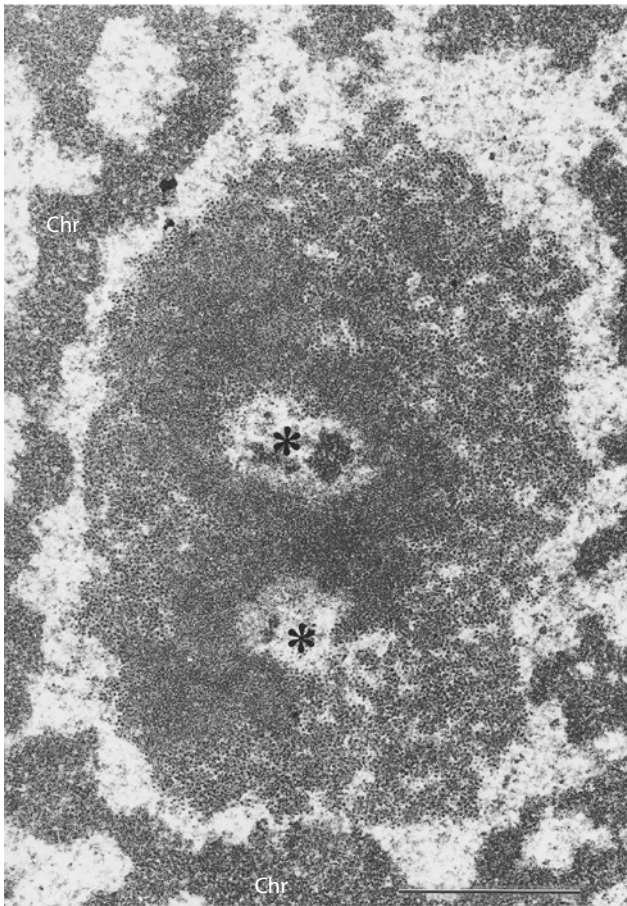
folge und wird als Ganzes transkribiert. Das Primärtranskript, die prä-rRNA, wird nachträglich in die einzelnen rRNAs zerlegt und von flankierenden Sequenzen befreit. Ribosereste und Basen werden stellenweise methyliert. Alle diese Modifikationen werden im Nucleolus vorgenommen, der zu diesem Zweck über eine eigene RNA-Prozessierungsmaschinerie verfügt, die von derjenigen im restlichen Kernlumens abweicht.

Die NOR ist frei von Nucleosomen. Die Transkription der Gene in dieser Region erfolgt durch die nucleolusständige **RNA-Polymerase I**. Im Gegensatz zur gewöhnlichen RNA-Polymerase II ist dieser Typ für das Pilzgift Amanitin nicht sensitiv. An den Transkriptionseinheiten in der NOR sind die RNA-Polymerase-I-Moleküle so dicht aufgereiht, dass jede einzelne dieser Einheiten gleichzeitig etwa 100-mal transkribiert werden kann. Außerdem sind rRNA-Gene hoch repetitiv, vor allem bei Pflanzen: Bei Weizen können 15.000, bei Kürbis unter 20.000, bei Mais sogar über 23.000 rRNA Gene hintereinander aufgereiht sein. Gerade in wachsenden Zellen, die große Proteinmengen herstellen müssen, sind sehr viele Ribosomen notwendig, umso mehr, da Ribosomen gewöhnlich nur wenige Stunden existieren und daher ständig ersetzt werden müssen. Das Ausmaß der Proteinbiosyntheseaktivität einer Zelle korreliert daher mit der Größe der Nucleoli in ihrem Kern. In Zellen, die keine Proteine synthetisieren, wie die generativen Zellen von Pollenschläuchen, enthalten die Kerne nur kleine oder überhaupt keine Nucleoli.

Mit fortschreitendem Reifungsgrad verbinden sich rRNA-Transkripte zunehmend mit aus Cytoplasma in den Kern importierten ribosomalen Proteinen und bilden schließlich fertige **Präribosomen**, die sich als unmittelbare Vorläufer der großen und kleinen Ribosomenuntereinheiten vom Nucleolus ablösen und durch die Porenkomplexe in das Cytoplasma transportiert werden. Die zeitliche Abfolge dieser Vorgänge spiegelt sich in der Struktur des **Nucleolus** (► Abb. 1.24) wider. Auf EM-Aufnahmen von Nucleoli sind drei strukturell verschiedene Zonen unterscheidbar: Die von lockerem, feinfädigem Material umgebene NOR durchzieht den Nucleolus mäanderartig und bildet **fibrilläre Zentren**, in denen die rRNA transkribiert wird. Nach außen hin verdichtet sich das filamentöse Material dieser Zentren zu **dichten fibrillären Zonen**, in denen diese rRNA prozessiert wird. Die Peripherie des Nucleolus schließlich wird von einer **granulären Zone** gebildet, in der die Präribosomen akkumulieren.

1.2.4.4 Kernmatrix und Kernhülle

Nach der Zerstörung der Hülle von isolierten Zellkernen durch Detergenzien und der vorsichtigen Extraktion löslicher Proteine bleibt selbst nach Nucleasebehandlung eine gelartige, lockere Struktur zurück, die in Form und Größe dem ursprünglichen Kern entspricht. Diese **Kernmatrix** (Nuclearmatrix) besteht aus einem Gemisch verschiedener Proteine. An die Kernmatrix sind DNA-Replikationsenzyme und RNA-Polymerasen gebunden und ziehen die DNA an sich entlang. Durch Antikörpermarkierung konnte gezeigt werden, dass so-



■ **Abb. 1.24** Nucleolus im Kern einer Zelle aus dem Wurzelmeristem von *Allium cepa* (Küchenzwiebel). Die Durchtrittsstellen der Nucleolusorganisatorregion des SAT-Chromosoms (*) sind von dicht gepacktem, fibrillärem Material umgeben. Es enthält die Primärtranskripte, während in der äußeren, granulären Zone Präribosomen angehäuft sind (Maßstab 1 µm). – Chr Chromatin. (EM-Aufnahme: H. Falk)

wohl Transkription als auch RNA-Prozessierung lokal begrenzt in bestimmten Bereichen des Kernlumens stattfinden. Lineare nucleäre DNA-Moleküle enthalten in bestimmten Abständen Anheftungssequenzen für die Kernmatrix und bilden zwischen diesen Fixpunkten Schleifen aus. In jeder dieser Schleifen werden Transkription und Replikation unabhängig von benachbarten Schleifen desselben DNA-Moleküls reguliert.

In Tierzellen befindet sich unmittelbar innerhalb der Kernhülle die aus Intermediärfilamenten bestehende **Kern- oder Nuclearlamina**. Diese wird von Laminen gebildet, die unmittelbar vor Zusammenbruch der Kernhülle stark phosphoryliert werden. Umgekehrt ist die Neuformierung der Kernhülle während der Neubildung der Tochterkerne verbunden mit einer Dephosphorylierung der Lamine. Auch die Kernmatrix wird während der Kernteilungen teilweise aufgelöst. Bei Pflanzenzellen konnte man jedoch weder Intermediärfilamente noch Laminin oder eine Kernlamina nachweisen.

Die **Kernhülle** leitet sich vom endoplasmatischen Reticulum ab und hängt an mehreren Stellen direkt mit ER-Zisternen zusammen. Auch trägt sie auf ihrer Außenseite Ribosomen. Durch ihre besondere Lage zwischen Karyo- und Cytoplasma, sowie durch den Besitz von **Kernporenkomplexen (NPC, von engl. nuclear pore complexes; ■ Abb. 1.25)** lässt sie sich jedoch von anderen ER-Bereichen unterscheiden. Durch die Kernporen werden mRNAs, tRNAs und Präribosomen (die Vorläufer der großen und kleinen Ribosomenuntereinheiten) aus dem Nucleus exportiert. In Gegenrichtung werden Kernproteine (z. B. Histone, DNA- und RNA-Polymerasen) in den Nucleus importiert. Die mit dem Transport durch die Kernporen befassten Proteine und Komplexe wie Importine und Exportine pendeln zwischen Karyo- und Cytoplasma hin und her (■ Abb. 6.11). Der Transport wird durch kleine GTPasen aus der Ran-Familie reguliert (► Abschn. 6.5), wobei die Richtung durch einen Gradienten von Ran-GDP (Cytoplasma) und Ran-GTP (Karyoplasma) bestimmt wird. Kleine Proteine (die Schwelle liegt bei etwa 40 kDa) können sich auch frei durch die Kernporen bewegen. Die Kernporen können sehr zahlreich auftreten (bis zu 80 Komplexe pro Quadratmikrometer).

Die Kernporen aller Eukaryoten sind sich strukturell sehr ähnlich und zeichnen sich durch eine enorme Komplexität aus (■ Abb. 1.25b). Mit mehr als 100 MDa übertrifft die Gesamtmasse eines Kernporenkomplexes die eines Ribosoms um das 10- bis 30-Fache. Kernporen bestehen aus 30 Core-Proteinen (**Nucleoporine**) und über 100 weiteren Proteinen. Viele Nucleoporine enthalten die Zweiersequenz Phenylalanin-Glycin in mehrfacher Wiederholung, ein Hinweis darauf, dass diese Proteine phylogenetisch miteinander verwandt sind.

1.2.4.5 Mitose und Zellzyklus

Als Mitose wird die mit Abstand häufigste Form der Kernteilung bezeichnet, die aus einem Zellkern zwei genetisch identische Tochterkerne entstehen lässt. Die Benennung geht auf das mit diesem Prozess verbundene Auftreten kondensierter Chromosomen zurück (griech. *mítos*, Faden). Die ersten eingehenden Untersuchungen der Mitose wurden von Eduard Strasburger, dem Begründer dieses Lehrbuchs, und dem Anatomen Walther Flemming an Pflanzen bzw. Tieren mit besonders langen Chromosomen durchgeführt (■ Abb. 1.26). Vor jeder Mitose wird in der **Interphase** (Phase zwischen zwei aufeinanderfolgenden Mitosen) die im Zellkern gespeicherte genetische Information repliziert. Während der Mitose werden dann mithilfe der **Kernteilungsspindel** (Mitosespindel, Spindelapparat) die zwei dadurch entstandenen identischen Chromosomensätze gleichmäßig auf die beiden neu entstehenden Tochterkerne verteilt, sodass jeder dieser Kerne einen vollständigen Chromo-

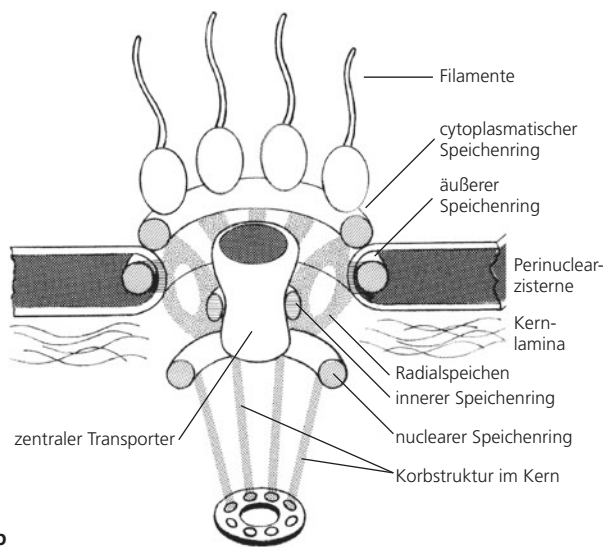
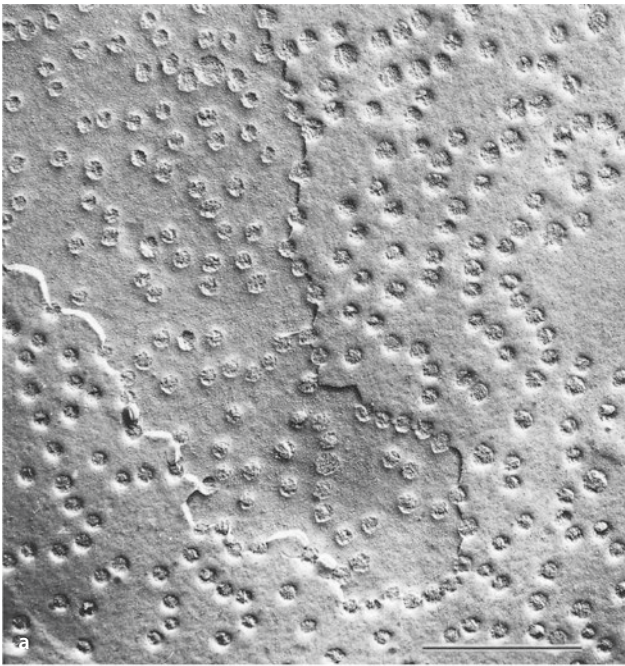


Abb. 1.25 Porenkomplexe der Kernhülle. **a** Kernhülle von *Allium cepa* (Küchenzwiebel), Gefrierbruch (Maßstab 1 µm). **b** Feinbaumodell eines Porenkomplexes. In der Perinuclearzisterne liegt der äußere Speichenring, der zusammen mit dem nucleären und dem cytoplasmatischen Speichenring die Radialspeichen trägt. Die Bereiche zwischen den Speichen sind durch amorphes Material abgedichtet. Der cytoplasmatische Speichenring trägt acht Partikel, von denen aus Filamente ins Cytoplasma ragen. Die Speichen halten über den inneren Speichenring einen röhrenförmigen Zentralpfropfen (Zentralgranulum). Durch ihn werden die verschiedenen Partikel geschleust, die zwischen Kern und Cytoplasma ausgetauscht werden. (a EM-Aufnahme: V. Speth)

somensatz erhält. Alle durch Mitosen aus einer Zelle hervorgegangenen Zellen sind daher genetisch identisch und bilden eine klonale Linie (griech. *klon*, Zweig, Trieb). Durch Mutationen kann die anfängliche Erb-

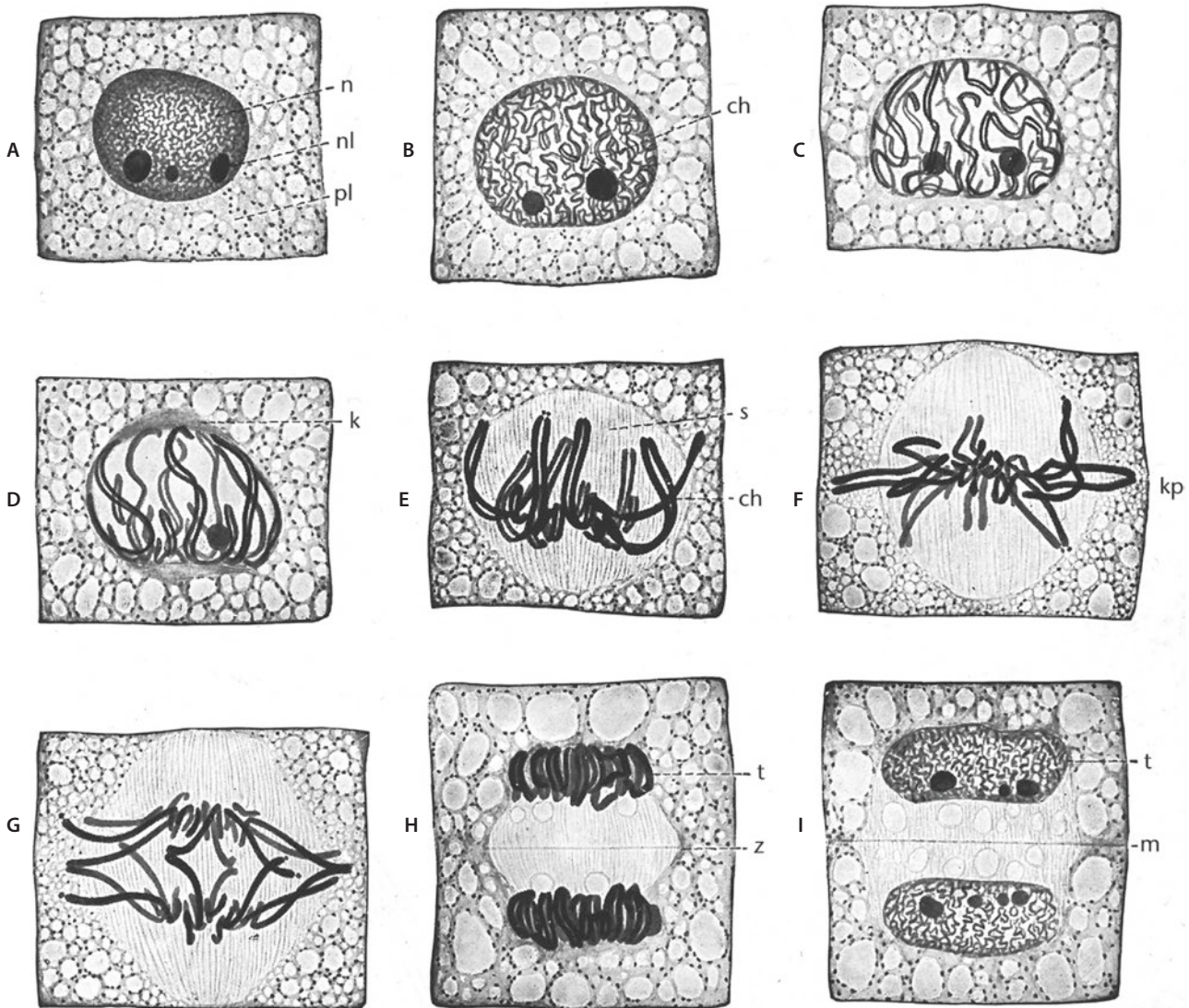
gleichheit innerhalb eines Klons allerdings verlorengehen. Die Mitose ist gewöhnlich mit einer **Zellteilung (Cytokinese)** verbunden. Das ist jedoch nicht immer der Fall (wie bei der Bildung polyenergetischer Zellen). Auch kann die Zellteilung durchaus asymmetrisch sein, sodass zwei ungleich große Tochterzellen entstehen, auch wenn beide genetisch gleich sind. Solche **inäquale Zellteilungen** stehen stets am Beginn von Differenzierungsprozessen.

Bei Prokaryoten gibt es keinen Zellkern und damit keine Mitose, obwohl sich auch diese Zellen natürlich teilen können (► Abschn. 19.1.1). Ablauf und Mechanismen der prokaryotischen Zellteilung unterscheiden sich jedoch. Dennoch entstehen genetisch gleiche Tochterzellen (Klone). Das Klonieren von DNA, also die identische Vervielfachung beliebiger DNA-Sequenzen in rasch wachsenden Bakterienkulturen ist eine zentrale Methode der modernen Molekularbiologie.

Der Prozess der Mitose ist seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannt und wird üblicherweise in fünf Phasen gegliedert (► Abb. 1.26 und 1.27). In einer relativ langen Vorbereitungsphase, der **Prophase**, kondensieren die Chromosomen langsam, sodass das empfindliche genetische Material aus einer lockeren „Arbeitsform“ in eine kompakte „Transportform“ überführt wird (► Abb. 1.28). Lichtmikroskopisch äußert sich das in einer Vergrößerung der Chromatinstruktur, sodass die Chromosomen einzeln hervortreten. Da die DNA zu diesem Zeitpunkt schon repliziert wurde, erscheinen die Chromosomenarme stellenweise längs gespalten. An der Chromatinkondensation sind verschiedene Proteine beteiligt, insbesondere Linkerhistone der H1-Gruppe (► Abschn. 1.2.4.1) und die SMC-Proteine (nach einem bei der Hefe *Saccharomyces* entdeckten Gen, das für die Stabilität von Minichromosomen notwendig ist).

Während der Prophase wird im Cytoplasma die Bildung des Spindelapparats vorbereitet. Schon vor der Chromatinkondensation rücken bei den Landpflanzen die peripheren Mikrotubuli zu einem **Präprophaseband** zusammen, das den künftigen Zelläquator in der Pflanzenzelle markiert (► Abb. 1.13 und 1.14). Später ordnen sich die Mikrotubuli zur charakteristischen **Mitospindel** um (► Exkurs 1.3, ► Abb. 1.12). Alle größeren cytoplasmatischen Organellen werden aus dem Spindelbereich verdrängt. Am Ende der Prophase zerfällt die Kernhülle in Vesikel und kleine Zisternen, die an die Spindelpole verlagert und später zur Neubildung der Hüllen der Tochterkerne wieder herangezogen werden.

Der Prophase folgt eine Übergangsphase, die **Prometaphase**, in der zunächst die Mikrotubuli des Spindelapparats mit den Kinetochoren in Kontakt treten, wodurch sich die Chromosomen dann in den Zelläquator, die Symmetrieebene zwischen den Spindelpolen, verlagern. Unmittelbar nach dem Fragmentieren der Kernhülle trennt sich Nucleolomaterial teilweise von den sekundären Einschnürungen der SAT-Chromosomen, wandert aus dem Spindelbereich heraus und löst sich



■ **Abb. 1.26** Mitose und Teilung einer embryonalen Zelle (Wurzelspitze von *Aloe thraskii*). A Interphase. B–D Prophase. E Prometaphase. F Metaphase. G Anaphase. H, I Telophase und Zellteilung (1000 ×). – n Kern, nl Nucleolus, ch Chromosomen, pl Cytoplasma, s Spindel, k Polkappen, kp Äquatorialplatte, t Tochterkerne, z wachsende Zellplatte im Phragmoplasten; m Zellplatte, die später zur Mittellamelle der neuen Zellwand wird. (Nach G. Schaffstein)

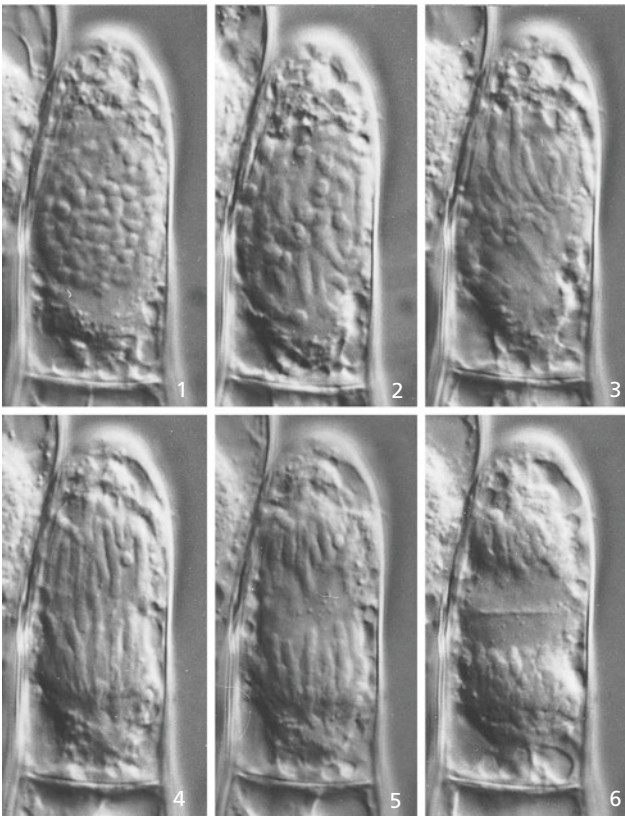
dann meistens im Cytoplasma auf. Ein Teil des Nucleolimaterials bleibt allerdings an der Oberfläche der SAT-Chromosomen zurück und wird später mit diesen zusammen zu den Tochterkernen transportiert.

Die **Centromere** (► Abschn. 1.2.4.2) sind durch besondere, oft hoch repetitive DNA-Sequenzen ausgezeichnet, die nie transkribiert werden. Mit ihnen sind viele spezifische Proteine (**CENP**, Centromerproteine) assoziiert, die unter anderem die plattenförmigen Kinetochoren aufbauen und sie an der Centromer-DNA verankern. Die äußere Kinetochorenplatte hat eine hohe Affinität zu den Plus-Enden von Spindelmikrotubuli, die innere zum Centromerchromatin.

Nachdem die Centromere aller jetzt maximal kondensierten Chromosomen am Zelläquator angelangt

sind, ist die **Metaphase** erreicht (griech. *metá*, inmitten). In dieser Phase kann der gesamte Chromosomensatz lichtmikroskopisch am besten beobachtet werden (■ Abb. 1.23b, c). Die Arme der Metaphasechromosomen hängen in der Regel polwärts aus der Äquatorialplatte heraus. Mit dem Alkaloid Colchicin, das den Abbau der labilen Spindelmikrotubuli bewirkt, kann die Mitose in der Metaphase arretiert werden.

Die Metaphase dauert relative lange, vermutlich, weil die korrekte Anordnung der sich weiterhin leicht pendelnd bewegenden Chromosomen in der Äquatorialplatte des Spindelapparats Zeit benötigt. Zugleich schreitet die endgültige Teilung der replizierten Chromosomen weiter voran, sodass die künftigen Tochter-



■ **Abb. 1.27** Mitose und Zellteilung in der Endzelle eines Staubfadenhaars von *Tradescantia virginiana*, Lebendpräparat (680 ×). 1 Ende der Prophase, Polkappen ober- und unterhalb der kondensierten Chromosomen deutlich. 2 Prometaphase (Metakinese, Dauer 15 min). 3 Metaphase (15 min). 4, 5 Anaphase (10 min). 6 Beginnende Telophase und Zellteilung durch Zellplattenbildung. (Differenzialinterferenzkontrastaufnahmen: Hepler 1985, mit Erlaubnis der Rockefeller University Press)

chromosomen als Längsspalthälften der Chromosomen (**Chromatiden**) immer deutlicher sichtbar werden.

Am Ende der Metaphase hängen die Chromatiden oft nur noch am Centromer zusammen. Der Zusammenhalt wird durch **Cohesin**, einen multimeren Proteinkomplex, gewährleistet. Cohesin wird dann infolge der Aktivierung des Anaphase-Promoting-Komplexes, einer Ubiquitin-E3-Ligase, proteolytisch abgebaut, wodurch die **Anaphase** schlagartig eingeleitet wird, in der sich die jetzt vollständig getrennten Tochterchromosomen mithilfe des Spindelapparats (► Exkurs 1.3) auf die Spindelpole zu bewegen (griech. *aná*, hinauf, entlang). Dabei wandert jeweils eines der beiden Tochterchromosomen zum nächstgelegenen Spindelpol. Während der Anaphase wird also das genetische Material gleichmäßig auf die beiden künftigen Tochterkerne bzw. -zellen verteilt. In dieser Phase befinden sich in der noch ungeteilten Zelle vier Chromosomensätze, die Zelle ist jetzt vorübergehend tetraploid (4n).

Das kann zur Herstellung polyploider Pflanzen ausgenutzt werden. Durch Colchicinbehandlung (Blockierung der Anaphase) von Vegeta-

tionspunkten an Sprossspitzen entstehen im Bildungsgewebe (Meristem) tetraploide Zellen. Die soeben getrennten Tochterchromosomen werden infolge der andauernden Störung des Spindelapparats schließlich in einem einzigen Restitutionskern vereinigt, der entsprechend größer ist und bei nachfolgenden Mitosen den verdoppelten Ploidiegrad beibehält. Weil das Verhältnis Kerngröße/Zellgröße tendenziell aufrechterhalten wird, können dadurch auch die Zellgröße und bei Nutzpflanzen damit letztlich auch der Ertrag entsprechend zunehmen.

Das Ende der Anaphase, der kürzesten Mitosephase, ist erreicht, wenn die beiden Tochterchromosomensätze in der immer noch ungeteilten Mutterzelle so weit wie möglich auseinandergerückt sind und die Chromosomenverschiebung zum Stillstand kommt.

In der Schlussphase der Mitose (**Telophase**, griech. *têlos*, Ende, Ziel) laufen die wesentlichen Teilprozesse der Prophase in umgekehrter Reihenfolge und Richtung ab. Der Spindelapparat löst sich auf. Um die in den Polregionen dicht gedrängten Chromosomen bildet sich durch Verschmelzen von ER-Zisternen wieder eine geschlossene Kernhülle mit neuen Kernporen. Die Chromosomen lockern sich auf. Euchromatische Chromosomenregionen bilden das typische, physiologisch aktive Chromatin der Interphasekerne. Sehr rasch werden neue Nucleoli gebildet, einerseits aus dem Material, das an den Chromosomenoberflächen mitgeführt worden ist, und andererseits durch die Wiederaufnahme der Synthese und Prozessierung von rRNA-Vorstufen an den NORs der SAT-Chromosomen. Die Proteinsynthese im Cytoplasma, die während der Mitose stillgelegt war, setzt wieder ein. Nach der Telophase/Kernteilung beginnt in der Regel die Zellteilung (► Abschn. 1.2.4.6).

Mit Abschluss der Mitose ist die **Interphase** erneut erreicht, die eigentliche Arbeitsphase des Chromatins. Sie dauert wesentlich länger als die gesamte Mitose. Die regelmäßige Abfolge von Mitose und Interphase wird als **Zellzyklus** bezeichnet (■ Abb. 1.29 und 11.4). Zellen von Bildungsgeweben durchlaufen den Zellzyklus ständig. Im Gegensatz dazu wird der Zellzyklus in Zellen, die Bildungsgewebe verlassen und sich zu differenzieren beginnen, unmittelbar nach der letzten Mitose angehalten.

Isotopenversuche haben gezeigt, dass die Replikation der chromosomalen DNA während des Zellzyklus in einem mittleren Zeitabschnitt der Interphase erfolgt, der als **S-Phase** bezeichnet wird (S für Synthese neuer DNA). Der zwischen Mitose (**M-Phase**) und S-Phase liegende Zeitabschnitt wird **G₁-Phase** genannt (G von engl. *gap*, Lücke). Dementsprechend liegt die **G₂-Phase** zwischen der S-Phase und der nächsten Mitose. In aufeinanderfolgenden Zellzyklen wechseln also ständig Vermehrung (Replikation) und Verteilung (Segregation) des genetischen Materials ab. Die zwischengeschalteten G-Phasen dienen dem Wachstum der Zelle (vor allem G₁) und der Vorbereitung der nächsten Mitose (G₂). Ein entscheidender Kontrollpunkt liegt vor dem Beginn der S-Phase; wird er über-

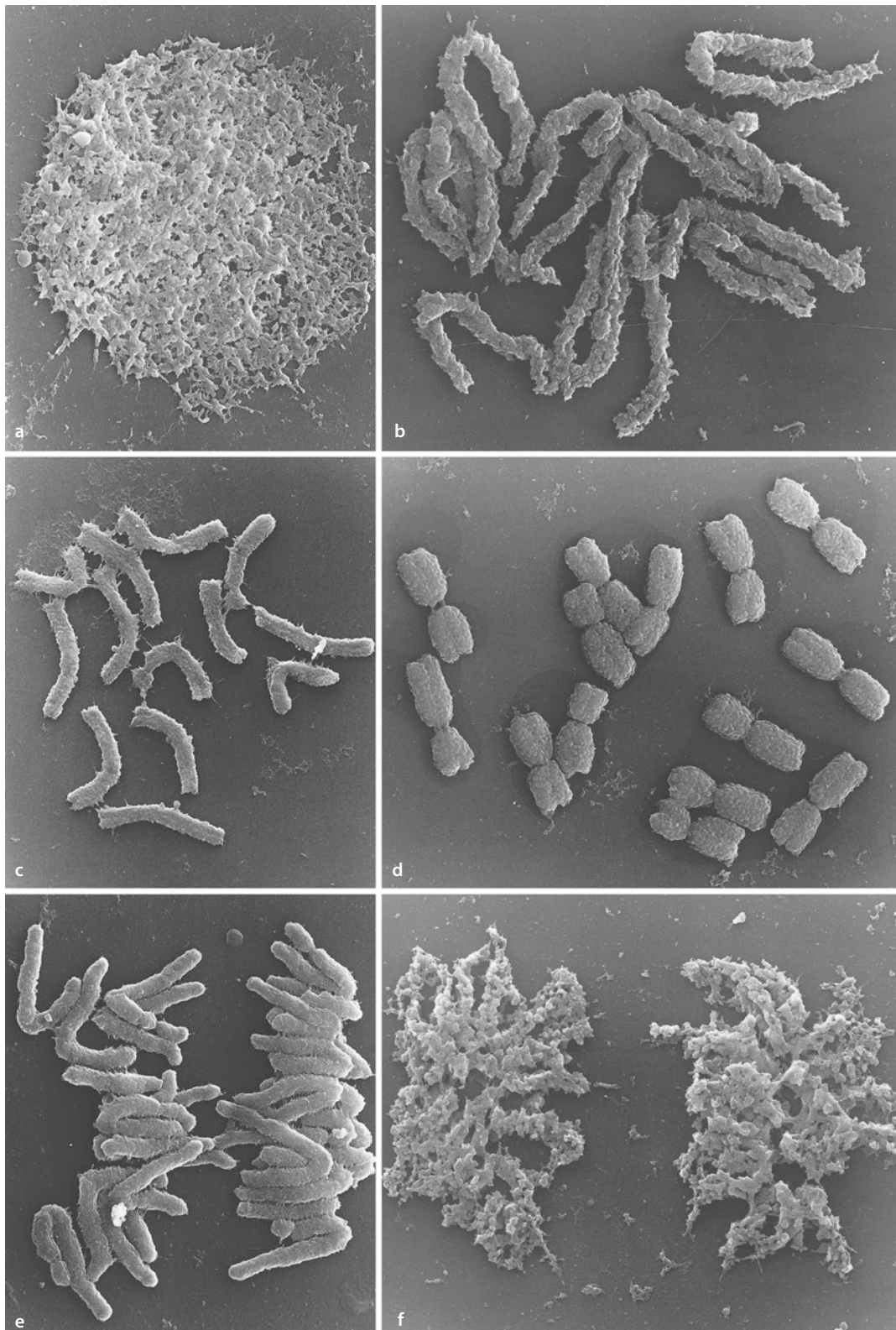
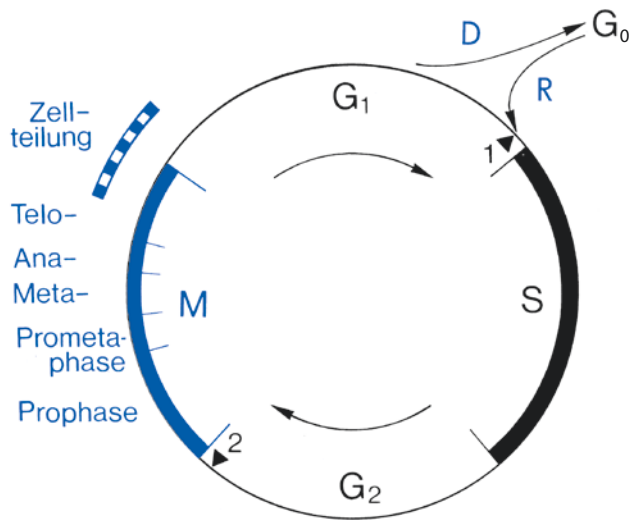


Abb. 1.28 Chromatinkondensation und -dekondensation während der Mitose. **a** Interphase. **b, c** zunehmende Kondensation während Prophase und Metakinese. **d** Metaphase (arretiert durch Amiprophosphomethyl, das eine besonders starke Kondensation bewirkt). **e** Anaphase. **f** Dekondensation in der Telophase. Zur Präparation wurden von fixierten Wurzelspitzen der Gerste *Hordeum vulgare* durch enzymatischen Verdau der Zellwände Zellsuspensionen hergestellt. Die Protoplasten platzen beim Auftropfen auf gekühlte Objektträger. Nach Abdecken mit Deckgläsern werden die Präparate tiefgefroren, nach Entfernen der Deckgläser vorsichtig entwässert und im REM untersucht. (Nach G. Wanner)



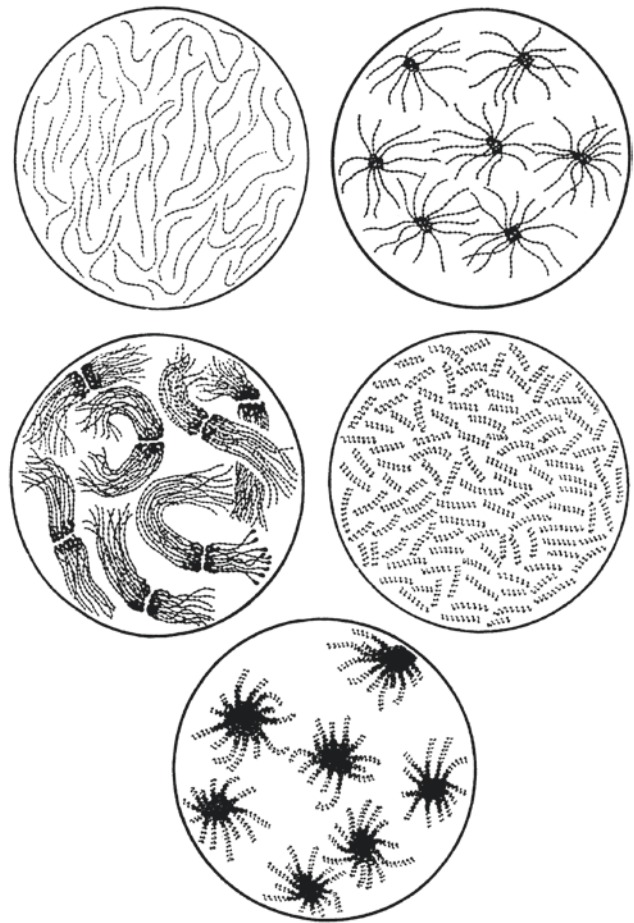
■ **Abb. 1.29** Phasenfolge im Zellzyklus. – M Mitose; G_1 postmitotische Wachstumsphase; D Differenzierung zu Gewebezellen, deren DNA unrepliziert bleibt (G_0); R Reembryonalisierung, z. B. bei der Regeneration; S Replikation der DNA; G_2 prämitotische Phase; Pfeilköpfe 1 u. 2: Kontrollpunkte. Über die komplexe Regulation des Zellzyklus informiert ■ **Abb. 11.3**

schritten, erfolgt unweigerlich eine weitere Mitose und der gesamte Zellzyklus wird ein weiteres Mal durchlaufen. Wird der Kontrollpunkt dagegen nicht überschritten, finden keine weiteren Kern- oder Zellteilungen statt. Zellen treten dann in die G_0 -Phase ein und differenzieren sich zu Gewebe oder Dauerzellen. Die Regulation des Zellzyklus (**Zellzykluskontrolle**) wird in ► Teil III (Entwicklung) behandelt (► Abschn. 11.2.1).

In manchen Fällen kommt es zu starken Abweichungen vom normalen Ablauf des Zellzyklus. Ein Beispiel dafür stellt die Entstehung von endopolyploiden Zellen dar, während der S-Phasen wiederholt ohne zwischengeschaltete M-Phasen durchlaufen werden (Polytänie). Bei Pflanzen geschieht dies häufig im Embryosack und im Endosperm der Angiospermen (■ **Abb. 1.30**), aber auch bei der Bildung von Haaren (Trichomen). Die für die Aufklärung der Genregulation bedeutsamen polytänen Riesenchromosomen, wie sie bei Speicheldrüsenkernen von Dipteren (wie Zuckmücken) auftreten, sind bei Pflanzen selten.

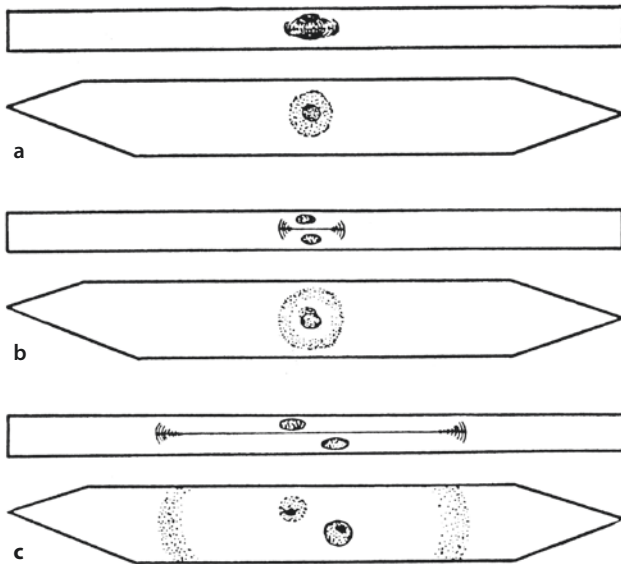
1.2.4.6 Zellteilung

Im Anschluss an die Mitose/Kernteilung findet normalerweise eine Zellteilung (**Cytokinese**) statt. In vielen sich teilenden Pflanzenzellen werden gleichzeitig mit dem Abbau des Spindelapparats in der Telophase am Zelläquator in großer Zahl neue, relativ kurze und senkrecht zur Äquatorebene orientierte Mikrotubuli synthetisiert (■ **Abb. 1.14**). Durch die regelmäßige Ausrichtung der Mikrotubuli wird die gesamte Plasmazone zwischen den Tochterkernen doppelbrechend. Sie wird **Phragmoplast** genannt („Wandbildner“; griech. *phragma*, Abgrenzung; *plastes*, Bildner, Former). Die Ränder des Phragmoplasten sind über Actin-



■ **Abb. 1.30** Verschiedene Chromatinstrukturen endopolyploider Kerne in Antipodenzellen (Embryosack) des Klatsch-Mohns *Papaver rhoeas*, halbschematisch. (Nach G. Hasitschka.)

filamente mit der Plasmamembran verbunden. In der Umgebung des Phragmoplasten reichern sich aktive Dictyosomen an. Von ihnen wandern mit Zellwandmatrix gefüllte Golgi-Vesikel in den Phragmoplasten ein, akkumulieren in der Äquatorebene und verschmelzen durch die Ausbildung besonderer Fusionstubuli miteinander. So entsteht eine neue Zellwand zwischen den Tochterzellen: die **Zellplatte**. Der Bildungsprozess beginnt in der Regel in der Mitte der ehemaligen Mutterzelle. Die Zellplatte wächst dann unter fortwährender Inkorporation weiterer Golgi-Vesikel an ihren Rändern bis zur Mutterzellwand. Die Trennung der beiden Tochterzellen erfolgt also von innen nach außen, genau umgekehrt wie bei der Cytokinese von Tierzellen, bei denen die Tochterzellen zunehmend eingeschnürt werden. Die Trennung der Tochterzellen dauert oft nur Minuten. Bei großen Zellen, z. B. in den Initialen in Cambien, die sich in zwei sehr lange Hälften spalten müssen (■ **Abb. 1.31**, ► Abschn. 2.2.2), kann es freilich viel länger dauern, bis die zentrifugal wachsende Zellplatte die Trennung der Tochterzellen vollzogen hat. Bereits



■ **Abb. 1.31** Bildung der Zellplatte in einer Cambiumzelle. **a** Telo- phase, Formierung des Phragmoplasten. **b, c** Der Phragmoplast wächst zentrifugal und erreicht zunächst die Seitenwände der gestreckten Zelle; die Zellenden sind noch ungeteilt. (Nach I.W. Bailey)

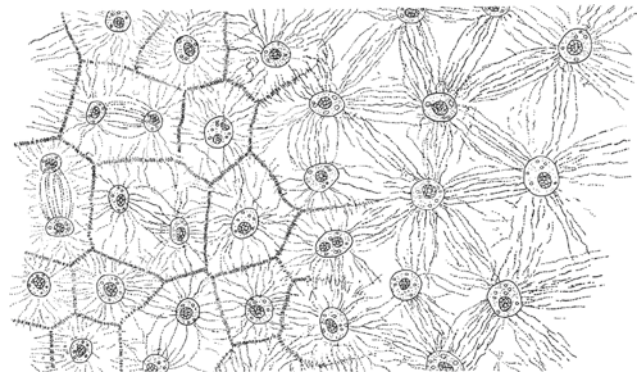
während ihrer Entstehung bildet die Zellplatte erste Plasmodesmen um ER-Elemente herum, von denen sie durchzogen wird. Während sich die Zellplatte nach außen erweitert, reift sie durch die Deposition erster Lamellen der eigentlichen, primären Zellwand, die bereits wenige Cellulosefibrillen enthält, zunehmend in derselben Richtung.

Nicht immer folgt auf die Kernteilung eine Cytokinese. Das Ergebnis „freier“ Kernteilungen ohne anschließende Cytokinese sind mehrkernige Zellen, polyenergide **Plasmodien**. Bei Algen (z. B. siphonalen Grünalgen oder Xanthophyceae [Gelbgrünalgen]) sind Plasmodien häufig, während sie bei phylogenetisch weiterentwickelten Pflanzen nur gelegentlich vorkommen. Beispielsweise ist das nucleäre Endosperm mancher Samen ein Plasmodium (bekanntestes Beispiel: Kokosmilch), genauso wie die vielkernigen, ungegliederten Milchröhren der Wolfsmilcharten. Nucleäres Endosperm kann sich durch freie Zellbildung in zelluläres umwandeln (■ **Abb. 1.32**) Mehrkernige Zellen können alternativ durch Verschmelzen (Fusion) einkerniger Zellen zustande kommen. In solchen Fällen spricht man von **Syncytien**. Beispiele für Syncytien sind die gegliederten Milchröhren des Löwenzahns (*Taraxacum*) und das Tapetum der Pollensäcke.

Wie die Mitose, so kann auch die Zellteilung von den oben beschriebenen Abläufen erheblich abweichen. Bei Flagellaten und manchen Algen wird z. B. die für Tierzellen typische Furchungsteilung beobachtet, die auf der Durchschnürung der Mutterzelle mithilfe eines äquatorialen Actomyosinrings beruht.

1.2.4.7 Meiose

Bei der Mitose erhalten die beiden Tochterkerne die genau gleiche Ausstattung an genetischer Information, die auch mit der des Mutterzellkerns identisch ist. Dagegen



■ **Abb. 1.32** Polyenergides Endosperm von *Reseda* mit nach rechts fortschreitender Zellwandbildung (240 ×). (Nach E. Strasburger)

entstehen bei der Meiose aus einer diploiden Mutterzelle in zwei aufeinanderfolgenden Teilungsschritten vier haploide Tochterzellen, die in genetischer Hinsicht weder miteinander sind noch genau mit der Mutterzelle übereinstimmen. Durch **Syngamie**, die Fusion zweier haploider, zwar artgleicher, aber genetisch verschiedener **Gameten** (Keimzellen; griech. *gamêtes*, Gatte), entsteht umgekehrt eine diploide Zelle mit zwei ähnlichen, aber nicht identischen Chromosomensätzen, die **Zygote** (griech. *zygios*, vereinigt). Die Syngamie ist der zentrale zelluläre Vorgang der Befruchtung. Meiose und Syngamie sind die Basis der Sexualität im biologischen Sinn.

Durch die **Sexualität** können durch Mutationen im Lauf der Zeit entstandene Allele beliebig miteinander kombiniert werden. Neben nachteiligen oder neutralen Kombinationen entstehen so immer wieder auch Kombinationen, die unter den herrschenden Bedingungen vorteilhaft sind und daher positiv selektiert werden. Vor allem in evolutionären Situationen, wo sich die Bedingungen verändern, sind sexuelle Fortpflanzungszyklen von Vorteil, besonders dann, wenn die Genome umfangreich sind, also bei allen komplexen Vielzellern.

Die Präzision der DNA-Verdopplung und der Chromosomenverteilung durch den Spindelapparat schließen bei Mitosen störende Zufälligkeiten aus. Durch sexuelle Vorgänge wird umgekehrt dem Zufall jede nur mögliche Chance gegeben. Im kompletten Fortpflanzungszyklus mit Sexualität sind an drei Stellen Zufallsgeneratoren eingebaut:

In der unten genauer beschriebenen meiotischen Prophase werden zahlreiche Abschnitte zwischen homologen väterlichen und mütterlichen Chromosomen des diploiden Chromosomensatzes ausgetauscht (**intrachromosomale Rekombination**); Ort und Ausmaß dieser reziproken Austauschereignisse sind weitgehend zufällig.

Bei der ersten meiotischen Teilung werden mütterliche und väterliche Chromosomen zufällig auf die beiden Tochterzellen verteilt (**interchromosomale Rekombination**).

Bei der Gametenfusion ist es wieder dem Zufall überlassen, welche Gameten im konkreten Fall zu einer Zygote verschmelzen.

Früher hat man die Meiose als **Reduktionsteilung** bezeichnet, weil durch sie der diploide Chromosomenbestand ($2n$) auf den haploiden (n) reduziert wird. Doch trifft dieser Begriff nicht das Wesen der Meiose, ein Reduktion von $2n$ auf n könnte ja durch Wegfall der S-Phase in einem einzigen Teilungsschritt erreicht werden. Tatsächlich sind schon nach der ersten meiotischen Teilung (Meiose I) beide Tochterzellen haploid. Aber wo immer im gesamten Organismenreich die Meiose vorkommt, folgt der **Meiose I** noch eine **Meiose II**. Es entstehen damit vier **Gonen**. Diese können entweder als Gameten fungieren oder durch nachfolgende mitotische Vermehrung Gameten bilden. Erst durch die Aneinanderreihung der beiden mitotischen Teilungen kann die Neukombination des Erbguts (**Rekombination**) voll wirksam werden (s. u.). Die Meiose ist daher nicht nur eine Reduktionsteilung, sondern vor allem auch eine **Rekombinationsteilung**.

Meiose und Syngamie ergänzen sich, sind einander entgegengesetzt und sind notwendige Komponenten jeder sexuellen Fortpflanzung. Sie ermöglichen die ständige Durchmischung des Gen- bzw. Allelbestands (**Genpool**) einer Spezies. **Allele** sind unterschiedliche Ausbildungsformen eines Gens, die in homologen Chromosomen gleiche Positionen einnehmen und unter deren Einfluss das entsprechende Merkmal aber unterschiedlich ausgebildet wird (griech. *alloios*, verschieden.)

Die Meiose beginnt mit einer komplexen, zeitlich ausgedehnten **Prophase**. In ihr lassen sich mehrere Stadien unterscheiden, weil die Chromosomen innerhalb der intakten Kernhülle lichtmikroskopisch sichtbar werden und eine Serie charakteristischer Veränderungen durchlaufen (■ Abb. 1.33A–E):

Leptotän Im Leptotän werden die Chromosomen (nach einer verlängerten prämeiotischen S-Phase und Kernvergrößerung) als zarte **Chromonemen** sichtbar (griech. *leptós*, dünn; *tainía*, Band; *néma*, Faden). An vielen Stellen, die für jedes Chromosom charakteristisch sind, ist das Chromonema zu Chromomeren geknäult (■ Abb. 1.34). Die Telomere der einzelnen Chromosomen sind an der Kernhülle (bei Tierzellen an der Kernlamina) fixiert.

Zygotän Im Zygotän lagern sich homologe Chromosomen – die einander entsprechenden Chromosomen des mütterlichen und des väterlichen Chromosomensatzes – in ihrer vollen Länge paarweise zusammen (Syndese, **Synapsis**). Normalerweise beginnt die Synapsis an den Telomeren und läuft reißverschlussartig bis zu den Centromeren (dass dabei ein anderes Chromosom zwischen den Paarungspartnern eingeklemmt wird [engl. *interlocking*]), geschieht nur äußerst selten). Der Vorgang setzt

eine entsprechende Anordnung der Chromosomen im Interphasekern voraus, die durch Anheftung der Telomere an die Innenseite der Kernhülle und nachfolgendes Zusammenschieben entsprechender Anheftungsstellen erreicht wird. Zwischen den gepaarten Homologen bildet sich der im EM leicht erkennbare **synaptonemale Komplex** aus, eine Proteinstuktur, die den Zusammenhalt stabilisiert (■ Abb. 1.35).

Pachytän Im Pachytän ist die Homologenpaarung abgeschlossen (■ Abb. 1.36). Die Zahl der Chromosomenpaare (Bivalente) im Kernraum entspricht der haploiden Chromosomenzahl n der betreffenden Organismenart. In dieser Phase findet die intrachromosomale Rekombination statt. Das äußert sich in einem vorübergehenden Anstieg einer reparativen DNA-Synthese und wird morphologisch im Auftreten von **Rekombinationsknötchen** sichtbar, dichter kugelige Strukturen mit ca. 100 nm Durchmesser, die dem synaptonemalen Komplex seitlich anliegen. Der eigentliche molekulare Austauschvorgang, das **Crossing over** (Überkreuzung), bleibt unsichtbar. Nach und nach verkürzen sich die Chromosomen durch weitere Kondensation, wobei sie dicker werden (griech. *pachýs*, dick). Damit bereitet sich das nächste Stadium, das Diplotän, vor.

Diplotän Sein Beginn ist durch das Ende der Synapsis markiert, die synaptonemalen Komplexe verschwinden, und die Homologen beginnen auseinanderzuweichen. Sie haften allerdings an den Stellen, wo Crossing over stattgefunden hat, weiterhin aneinander. Die jetzt auch im Lichtmikroskop gut sichtbaren Überkreuzungen werden nach dem griechischen Buchstaben χ (Chi) als Chiasmen bezeichnet. Jedes **Chiasma** ist ein Ausdruck der molekularen Überkreuzung, die der intrachromosomalen Rekombination zugrunde liegt (► Abschn. 1.2.4.8). Die Chromosomen verkürzen sich weiter und jetzt zeigt sich auch, dass sie bereits repliziert waren. Jedes Chromosom ist längs in zwei Chromatiden gespalten; aus den Bivalenten sind Tetraden geworden (Vierstrangstadium). Genauere Beobachtungen zeigen, dass von den vier Chromatiden eines Homologenpaars an einem Chiasma jeweils nur zwei Chromatiden tatsächlich überkreuzt sind (■ Abb. 1.37D, F).

Diakinese Die Diakinese ist das letzte Stadium der meiotischen Prophase. Die Chromosomen sind nun maximal kondensiert und damit noch kürzer und dicker als in der mitotischen Metaphase. Die ungeteilten Centromere eines jeden Homologenpaars entfernen sich so weit wie möglich voneinander. Dieses Auseinanderdriften wird begrenzt durch die nächstliegenden Chiasmen. Aber vielfach werden die Chiasmen jetzt in Richtung der nicht länger an der Kernhülle fixierten Telomere verschoben und ihre Zahl wird dabei schrittweise vermindert (Terminalisierung der Chiasmen, ■ Abb. 1.38). Die

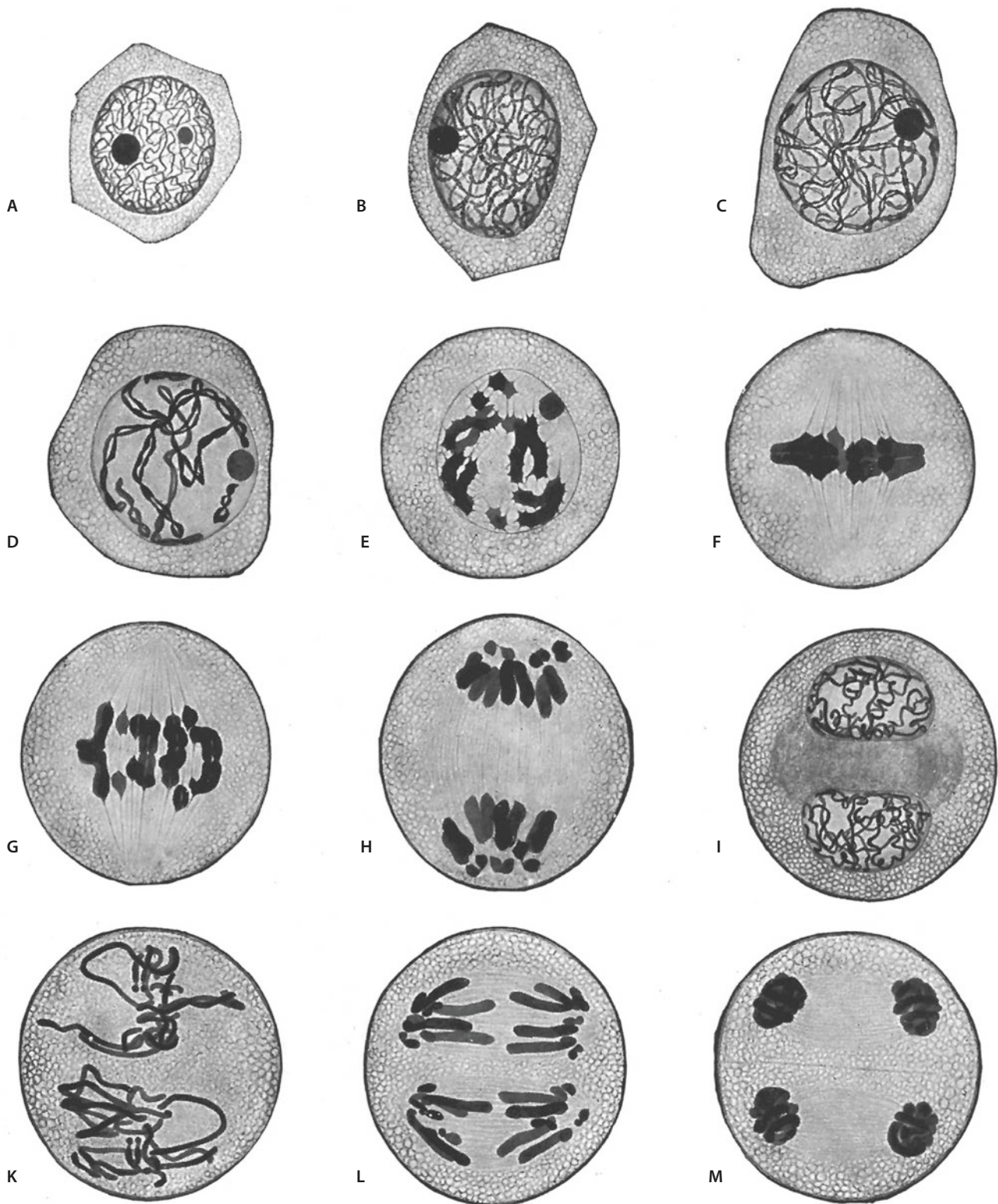


Abb. 1.33 Meiose in Pollenmutterzellen von *Aloe thraskii* (1000 ×). A–E Prophase von Meiose I (A Leptotän, B Zygotän, C Pachytän, D Diplotän, E Diakinese). F Metaphase I. G Anaphase I. H Telophase I. I Interkinese. K–M Meiose II, Bildung der vier Gonenkerne. (Nach G. Schaffstein)

Abb. 1.34 Leptotän **a** und Zygotän **b** in einer Pollenmutterzelle von *Trillium erectum* (1500 ×). Bei der Homologenpaarung kommen gleichartige Chromomere nebeneinander zu liegen (Strickleiteraspekt). (Nach C.L. Huskins und S.G. Smith)

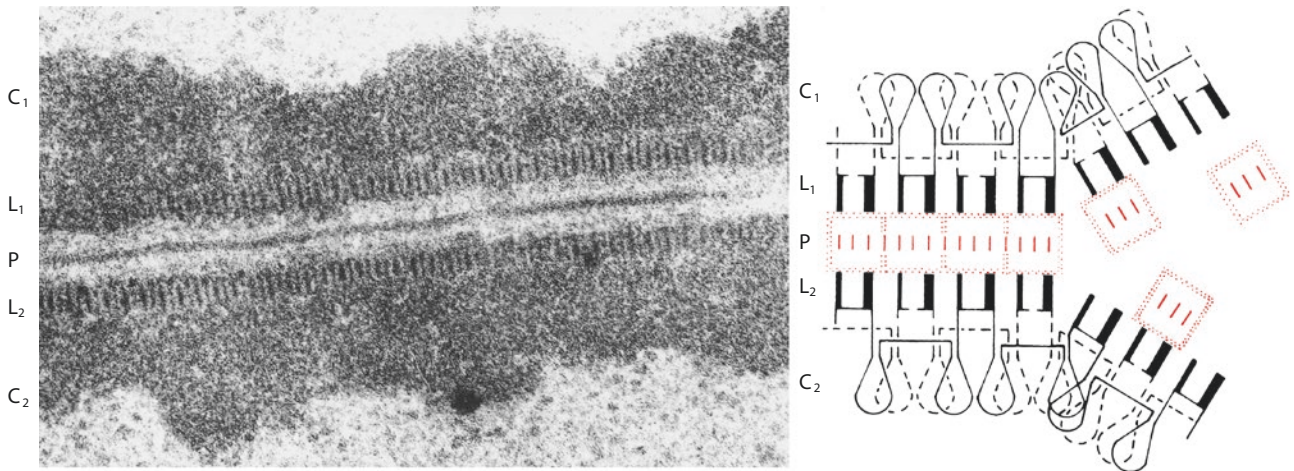
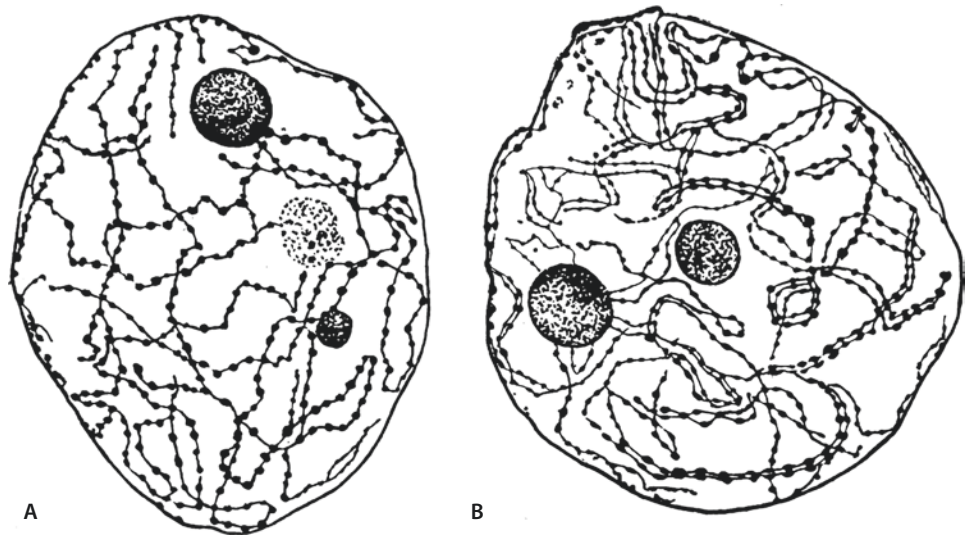


Abb. 1.35 Synaptonemaler Komplex (SC) zwischen gepaarten Chromosomen C_1 und C_2 beim Schlauchpilz *Neottiella*. **a** Längsschnitt im EM. **b** Schema. Bereits vor Paarungsbeginn werden die replizierten Chromosomen einseitig mit querstehenden Synaptonemeren besetzt, die in regelmäßiger Aufeinanderfolge ein bandförmiges Lateralelement L bilden. Die Lateralelemente homologer Chromosomen werden im Zygotän durch Proteinkomplexe mit starker Aggregationstendenz aneinandergeheftet; es entsteht ein dichtes, von undeutlichen Transversalelementen flankiertes Zentralelement P. Im SC kommt es stellenweise zu molekularer Paarung homologer DNA-Sequenzen von jeweils zwei der vier Chromatiden. Das ist Voraussetzung für intrachromosomale Rekombination durch Crossing over. (Nach D. von Wettstein)

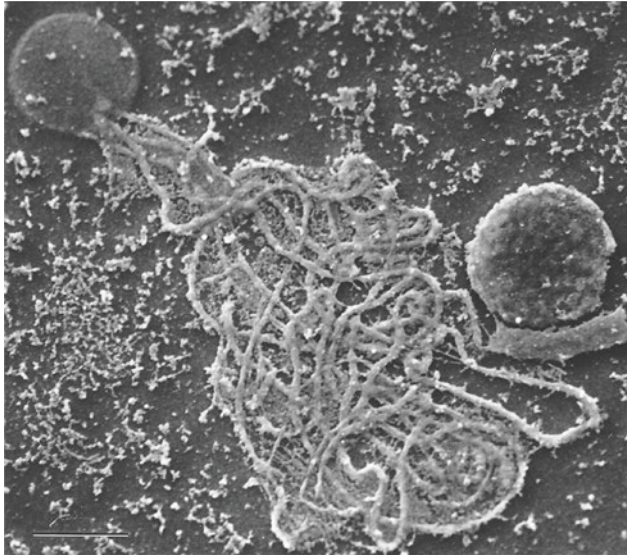
Diakinese (und damit die meiotische Prophase insgesamt) endet in dem Augenblick, an dem die Kernhülle zusammenbricht und damit die **Metaphase I** eingeleitet wird. Hier ordnen sich die Homologenpaare (!) am Spindeläquator an. Es liegen also vier Chromatiden nebeneinander. Dies ist ein entscheidender Unterschied zur Mitose, bei der ja nur die zwei replizierten Chromatiden nebeneinander angeordnet sind, die väterlichen und mütterlichen Chromosomen aber voneinander unabhängig sind. Die homologen Chromosomen sind in der Metaphase I immer noch über Chiasmen verbunden, oft jedoch nur noch an den Telomeren. An den Centromeren eines jeden Chromosoms befindet sich nur ein Kinetochor. Welches der beiden Chromosomen eines Homo-

logenpaars zu welchem Spindelpol hin orientiert ist, ist zufällig und bildet die Grundlage der interchromosomalen Rekombination.

Anaphase I In der Anaphase I werden die Chiasmen endgültig aufgelöst, die homologen Chromosomen hängen nicht mehr zusammen und wandern in der Teilungsspindel auseinander. Wesentlich ist, dass im Gegensatz zur mitotischen Anaphase nicht Chromatiden bzw. Tochterchromosomen in die Tochterkerne gelangen, sondern bereits replizierte Chromosomen mit noch nicht geteiltem Centromer und nicht verdoppeltem Kinetochor. Diese Chromosomen entsprechen nicht telophasischen, sondern prophasischen Chromosomen einer normalen Mi-

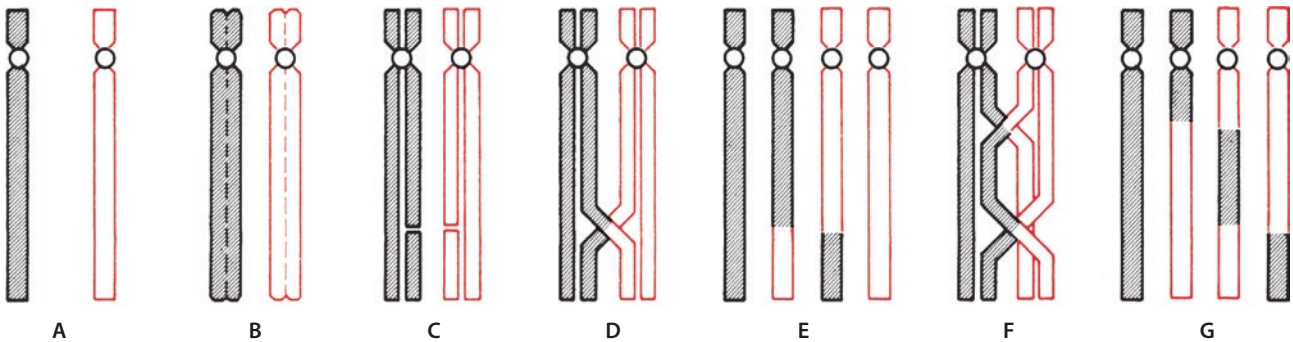
tose. Die Tochterzellen, die Meiozyten I, haben also in ihren Kernen zwar den haploiden Chromosomensatz, aber gegenüber dem haploiden und nichtreplizierten Ge-

nom mit der DNA-Menge C (C-Wert) noch die doppelte DNA-Menge (2 C).



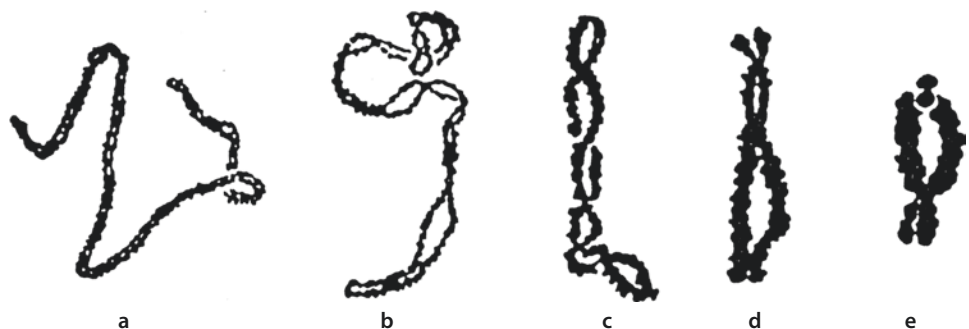
■ **Abb. 1.36** Gepaarte homologe Chromosomen (Bivalente) des Roggens *Secale cereale* (Anthere, frühes Pachytän). Die Bivalente sind aus dem aufgerissenen Prophasekern links oben ausgetreten; rechts ein intakter Kern (Maßstab 20 µm). (REM-Aufnahme: G. Wanner)

Meiose II In der Meiose II wird nun 2 C auf 1 C reduziert. In der Interphase zwischen der ersten und zweiten meiotischen Teilung, der **Interkinese**, findet keine DNA-Replikation statt, die S-Phase entfällt. Dementsprechend ist die Interkinese oft kurz und kann sogar ganz fehlen. Nur die Kinetochoren werden verdoppelt. Im Verlauf der Meiose II werden die während der prämeiotischen S-Phase entstandenen und im Pachytän durch Austausch (Crossing over) teilweise veränderten Chromatiden voneinander getrennt und jeweils in verschiedene Gonenkerne eingeschlossen. Äußerlich gleicht die Meiose II damit einer haploiden Mitose, aber die Schwesterchromatiden der einzelnen Chromosomen sind hier bezüglich ihres Allelbestands nicht identisch, denn infolge der intrachromosomalen Rekombination während des Pachytäns in der meiotischen Prophase sind in den Chromatiden immer wieder serienweise entsprechende Genorte mit unterschiedlichen (väterlichen bzw. mütterlichen) Allelen besetzt. Das ist überall dort der Fall, wo sich zwischen Centromer und der gerade betrachteten Stelle eine ungerade Zahl von Crossing over ereignet hat. Diese oft nicht identischen Sequenzen werden jetzt, zusammen mit den identischen Sequenzen



■ **Abb. 1.37** Chiasmaentstehung während der ersten meiotischen Prophase. **A, B** Homologenpaarung. **C** Entstehung von korrespondierenden Chromatidenbrüchen und **D** kreuzweises Verknüpfen zweier homologer Chromatidenabschnitte. **E** Präreduktion für die dem Centromer benachbarten (proximalen) Chromosomenabschnitte; für die distalen Abschnitte (jenseits des Chiasmas) Postreduktion. **F, G** Doppel-Crossing-over mit Dreistrangenaustausch, wobei der zweite Austausch zwischen einer Chromatide, die schon am ersten Austausch beteiligt war, und einer bisher unbeteiligten erfolgt. An einem Crossing over sind immer nur zwei der vier Chromatiden beteiligt, und zwar stets eine mütterliche und eine väterliche Chromatide. (Nach R. Rieger und A. Michaelis)

■ **Abb. 1.38** Verminderung der Chiasmenzahl durch Terminalisierung vom Pachytän a bis Metaphase I e. (*Anemone baicalensis*, 1000 ×.) (Nach A.A. Moffett)



der ursprünglichen Schwesterchromatiden, voneinander getrennt (**Postreduktion**, ■ Abb. 1.38). Die haploiden Gameten enthalten von jedem Gen nur noch ein Allel.

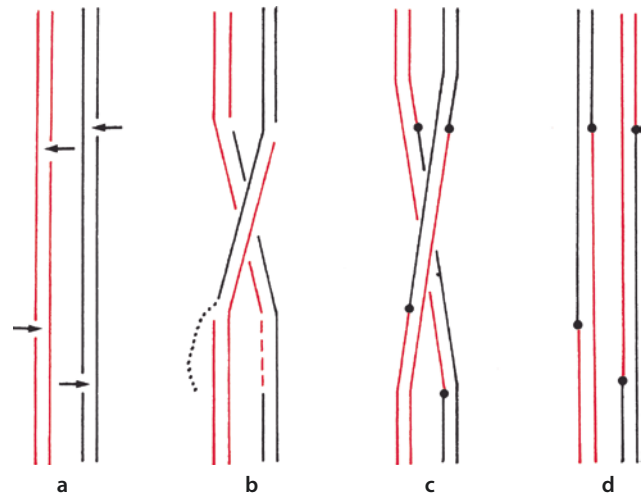
Die Zahl möglicher Verteilungsmuster für die mütterlichen und väterlichen Chromosomen in den Tochterzellen in der Anaphase I ist 2^n . Bei einem Organismus mit $n = 10$ Chromosomen im haploiden Satz gibt es also bereits über 1000 verschiedene Kombinationen, bei $n = 23$ (z. B. Mensch) fast 8,4 Mio. und bei $n = 50$ mehr als eine Trillion ($>10^{15}$). Die Chance, dass Gameten mit ausschließlich väterlichem bzw. mütterlichem Erbgut entstehen, ist also schon wegen der Zufallsverteilung der väterlichen und mütterlichen Chromosomen extrem gering, im Hinblick auf den zusätzlich immer gegebenen Segmentaustausch praktisch Null. Die Durchmischung des Allelbestands ist schon allein in der Meiose, noch ohne Berücksichtigung der Syngamie, extrem effektiv. Durch Erhöhung der Chromosomenzahl kann ein Organismus also die Zahl möglicher Kombinationen und damit die Effizienz der genetischen Durchmischung steigern. Andererseits wird der Aufbau des Spindelapparats bei hohen Chromosomenzahlen zunehmend komplexer und fehleranfälliger. Daher liegen die Chromosomenzahlen bei den meisten obligat sexuellen Organismen im Bereich von 10–50.

1.2.4.8 Crossing over

DNA-Sequenzen, die bestimmten Genen entsprechen, werden durch kovalente und andere starke Bindungen entlang der DNA-Doppelhelix in einem Chromosom bzw. einer Chromatide zusammengehalten. In der Genetik werden daher alle Gene, die auf einem bestimmten Chromosom lokalisiert sind, als gekoppelt bezeichnet. Ein Chromosom ist die strukturelle Entsprechung dessen, was in der Genetik als **Kopplungsgruppe** bezeichnet wird. Der Zusammenhalt der Gene in einer Kopplungsgruppe wird durch Crossing over durchbrochen: Nichtschwesterchromatiden gepaarter, homologer Chromosomen tauschen untereinander Teilstücke aus. Dieser Vorgang wird im Pachytän dadurch induziert, dass Endonucleasen in den DNA-Doppelhelices von zwei benachbarten Nichtschwesterchromatiden an entsprechenden Stellen Einzel- oder Doppelstrangbrüche verursachen, die kreuzweise durch Ligation repariert werden (■ Abb. 1.39). Der Vorgang wird oft dadurch kompliziert, dass Einzelstrangbrüche nicht auf genau gleicher Höhe erfolgen, sodass eine zusätzliche Reparatursynthese von DNA-Sequenzen und/oder der Abbau überstehender Sequenzenden erforderlich wird. Diese Prozesse laufen in den Rekombinationsknötchen am synaptonemalen Komplex ab, in denen alle erforderlichen Enzyme konzentriert sind.

1.2.4.9 Syngamie

Bei der Syngamie verschmelzen zwei Gameten zur Zygote. Damit wird die während der Meiose erzielte Reduktion des Chromosomenbestands wieder ausgeglichen. Es kommt zunächst zu einer Plasmogamie, also zur Entstehung einer zweikernigen Zelle. Meistens folgt der **Plasmogamie** unmittelbar die **Karyogamie**, entweder durch die Fusion der Kernhüllen der beiden Game-



■ **Abb. 1.39** Molekulare Vorgänge bei der intrachromosomalen Rekombination. **a** In den DNA-Doppelhelices von zwei (der insgesamt vier) gepaarten Nichtschwesterchromatiden werden enzymatisch Einzelstrangbrüche auf ungefähr gleicher Höhe induziert (Pfeile; Helixstruktur der DNA nicht dargestellt). **b** Überkreuzung nach Alternativpaarung, überstehende Einzelstränge (gestrichelt) werden abgebaut, fehlende Abschnitte (gestrichelt) durch Reparatursynthese ergänzt. **c** Ligation der freien Enden. **d** Durch Crossing over ist eine Neukombination mütterlicher und väterlicher Gene (Rekombination) eingetreten

tenkerne (Vorkerne) oder durch die Auflösen der Kernhüllen, unmittelbar gefolgt von der Anordnung der väterlichen und mütterlichen Chromosomen in einem gemeinsamen Spindelapparat und der ersten diploiden Mitose. Plasmogamie und Karyogamie können aber auch zeitlich weit voneinander getrennt erfolgen. Zwischen die beiden Teilprozesse der Syngamie ist dann eine **Dikaryophase** geschaltet, die betreffenden Zellen sind zweikernig. Dies kommt vor allem bei Pilzen vor (Ascomycota und Basidiomycota). Überhaupt sind die unterschiedlichsten Formen der Syngamie zu beobachten. In einigen Fällen werden überhaupt keine Gameten gebildet, weil beliebige Körperzellen des Paarungspartners miteinander verschmelzen können (**Somatogamie**, z. B. bei der haploiden Schraubenalge *Spirogyra*). In anderen Fällen sind die Gameten extrem differenzierte Zellen, deren Fusion durch ganz spezielle, oft geradezu skurril anmutende Anpassungen begünstigt wird. Man vergleiche dazu die detaillierten Darstellungen für die einzelnen systematischen Gruppen in ► Kap. 19.

1.2.5 Ribosomen – Werkzeuge der Proteinbiosynthese

Ribosomen sind Ribonucleoproteinkomplexe, an denen mRNA in lange Ketten aus Aminosäuren übersetzt werden (**Translation**, ► Abschn. 6.3). Die Genauigkeit dieses Vorgangs entscheidet letztendlich über die Lebensfähigkeit einer Zelle und muss daher sehr präzise und fehlerfrei ab-

■ **Tab. 1.2** Einige Ribosomendaten. Die Einheit S (Svedberg; gibt die Sedimentationsgeschwindigkeit pro Zentrifugalbeschleunigung an; $1\text{ S} = 10^{-13}\text{ s}$)

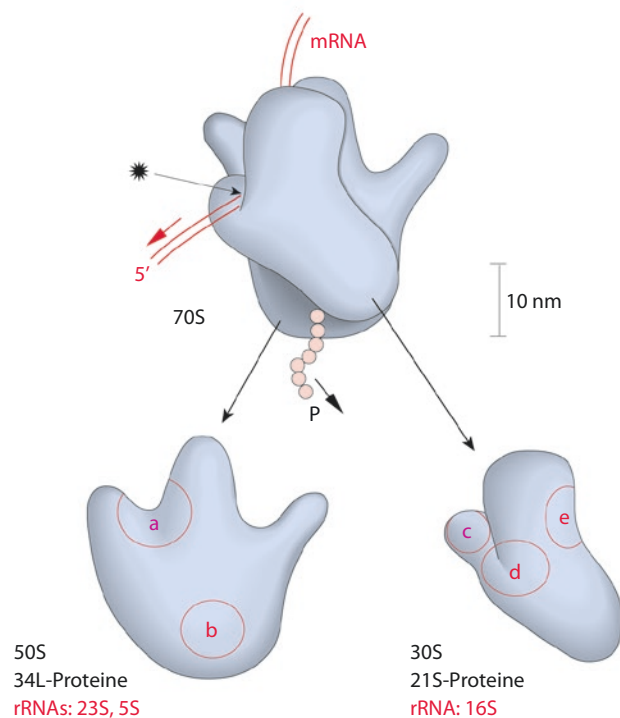
Eigenschaft	Cytoribosomen		Plastoribosomen		<i>E. coli</i> -Ribosomen	
Durchmesser (nm)	25		20		20	
Masse (kDa)	4200		2500		2500	
Sedimentation	80S		70S		70S	
Proteinanteil (% Trockenmasse)	50		47		40	
Untereinheiten	60S	40S	50S	30S	50S	30S
Anzahl, rProteine	49	33	30	23	34	21
rRNA	28S 5,8S 5S	18S	23S 5S 4,5S	16S	23S 5S	16S

laufen. Daher sind die Ribosomen sehr komplex und auch sehr groß – für die cytoplasmatischen Ribosomen der Eukaryoten wird die Molekülmasse auf etwa 4 MDa (4 Megadalton = 4 Mio. Da; ■ Tab. 1.2) geschätzt. Vor allem rasch wachsende Zellen in Bildungsgeweben sind besonders reich an Ribosomen.

Die Ribosomen der Prokaryoten sind kleiner als die der Eukaryoten. Nach ihrem Sedimentationsverhalten in der Ultrazentrifuge (► Abschn. 1.1.4) werden die beiden Ribosomentypen als 70S- bzw. 80S-Ribosomen bezeichnet. Sie unterscheiden sich nicht nur strukturell, sondern auch funktionell. So wird die Translation bei 70S-Ribosomen durch die Antibiotika Chloramphenicol, Streptomycin, Lincomycin und Erythromycin blockiert, während gleiche Konzentrationen dieser Antibiotika bei 80S-Ribosomen wirkungslos sind. Umgekehrt hemmt Cycloheximid nur die Funktion von 80S-Ribosomen. Die Organellenribosomen der Plastiden und Mitochondrien sind in vielem den bakteriellen 70S-Ribosomen (■ Abb. 1.40) ähnlicher als den eukaryotischen 80S-Cytoribosomen. Jedes Ribosom enthält genau einen Satz von rRNAs, ebenso tragen fast alle ribosomalen Proteine jeweils in einfacher Ausführung zum Komplex bei. Die Ribosomen der Mitochondrien sind bei verschiedenen Organismen teilweise sehr unterschiedlich ausgebildet.

Ganz gleich, ob die Ribosomen aus Prokaryoten, Mitochondrien, Plastiden oder aus dem eukaryotischen Cytoplasma stammen, sind sie aus zwei ungleich großen Untereinheiten aufgebaut. Diese Untereinheiten sind in der Regel nur während der Translation miteinander verbunden, genauer: während der Elongation einer gerade entstehenden Polypeptidkette. Mit der Freisetzung des fertigen Polypeptids (Termination) trennen sich die ribosomalen Untereinheiten voneinander. Die kleinere kann sich nun wieder mit 5'-terminalen Sequenzen einer neuen mRNA verbinden (Initiation). Nach Anheftung einer großen Untereinheit beginnt dann erneut die repetitive Reaktionsabfolge der Elongation.

Beide Ribosomenuntereinheiten sind Komplexe, bestehend aus vielen unterschiedlichen, zum Teil basischen, **ribosomalen Proteinen** und verschiedenen **rRNAs**:



■ **Abb. 1.40** Ribosomenstruktur, Beispiel 70S-Ribosom von *Escherichia coli*. Die große und die kleine Untereinheit liegen im aktiven Ribosom gepaart vor. Der Translationsvorgang findet an der durch den Pfeil mit Stern bezeichneten Stelle zwischen den Untereinheiten statt, die wachsende Polypeptidkette P tritt aus unteren Ende der großen Untereinheit aus. Die rProteine der großen Untereinheit werden mit L1, L2 usw. bezeichnet, die der kleinen mit S1, S2 usw. (engl. *large* bzw. *small*). Cytoribosomen von Eukaryoten (80S-Typ) weisen ähnliche Umrissformen auf, sind aber größer. Funktionelle Orte an den Untereinheiten: a Polypeptidsynthese (Peptidyltransferasezentrum), b Austritt der Polypeptidkette und Membrananheftung, c mRNA-Anheftung, Codon-Anticodon-Erkennung, d tRNA-Anheftung, e Interaktion mit Elongationsfaktoren

Das 80S-Ribosom im Cytoplasma eukaryotischer Zellen enthält eine 40S-Untereinheit (18S-rRNA; 33 Proteine) und eine größere 60S-Untereinheit (5S, 5,8S und 28S-rRNAs; 49 Proteine). Das 70S-Ribosom der Prokaryoten und der eukaryotischen Organellen ist dagegen aus seiner 30S-Untereinheit (16S-rRNA; 21 Proteine) und einer 50S-Untereinheit (5S- und 23S-rRNA; 32 Proteine) aufgebaut.

Die molekulare Struktur der Ribosomenuntereinheiten konnte zuerst für Bakterienribosomen bis in die atomaren Details ermittelt werden. Die Interaktion von mRNA und tRNAs findet dort statt, wo sich der „Kopf“ der kleinen Untereinheit und die „Krone“ der großen Untereinheit gegenüberstehen (Abb. 1.40). Von hier aus wandert die wachsende Polypeptidkette durch die große Untereinheit hindurch und tritt erst am gegenüberliegenden, stumpfen Ende dieser Untereinheit hervor. Das cytoplasmatische Ribosom überdeckt etwa 40 Aminosäurereste der wachsenden Polypeptidkette, was man dadurch herausgefunden hat, dass diese Reste nicht von Peptidasen/Proteinasen attackiert werden können.

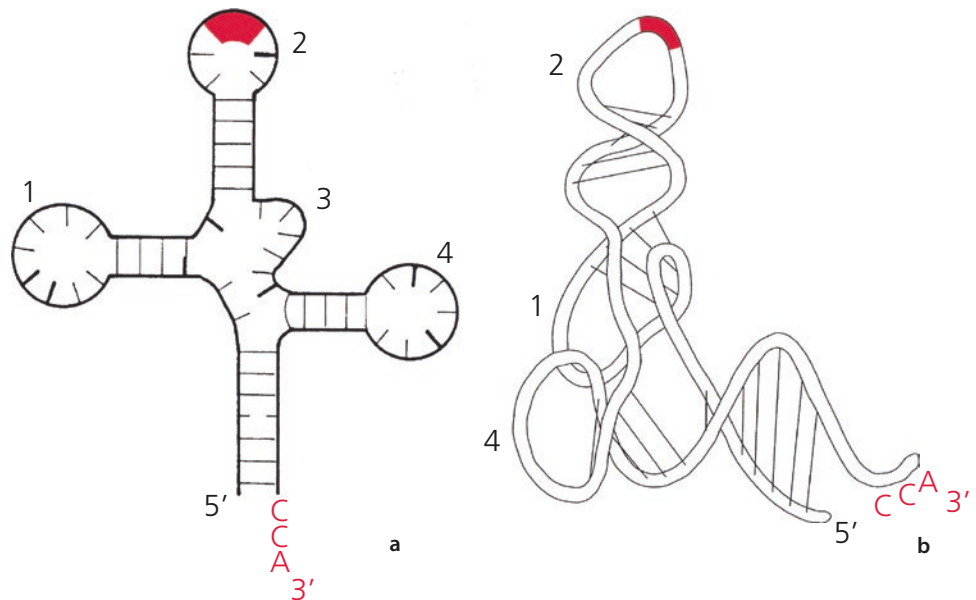
An der Translation sind drei Typen von RNA beteiligt: die mRNA als Informationsträger, die strukturellen rRNAs im Ribosom und die **Transfer-RNAs (tRNAs)**, wobei Letztere aktivierte Aminosäurereste an das Ribosom heranführen und deren Einbau in die wachsende Polypeptidkette vermitteln. Dabei greifen sie die in den Codons der mRNA verschlüsselte Information mithilfe von komplementären Anticodons unter vorübergehender Basenpaarung ab.

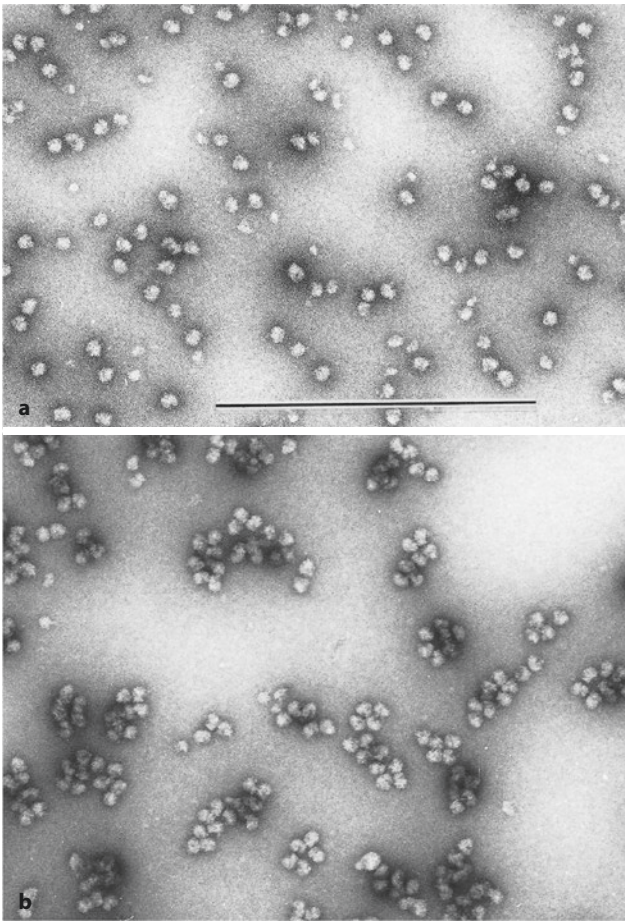
Die tRNAs sind vergleichsweise kleine Moleküle, die aus nur etwa 80 Nucleotiden (etwa 25 kDa) bestehen. Ihre Sequenz erlaubt weitgehende intramolekulare Basenpaarungen, wobei eine für alle tRNAs charakteristische Kleeblattstruktur mit vier Armen und drei Schleifen entsteht (Abb. 1.41a). Der Akzeptorarm mit 3'- und

5'-Ende trägt keine Schleife. An das 3'-Ende bindet der aktivierte Aminosäurerest. Das Anticodon, das dieser Aminosäure entspricht, kann an das basenkomplementäre Triplet (Codon) der mRNA binden und liegt gegenüber. In Wirklichkeit hat die tRNA jedoch nicht die zweidimensionale Kleeblattstruktur, sondern nimmt im Raum eine L-förmige Gestalt an. Das Ende des Aminosäureakzeptors und die Anticodonschleife befinden sich dann etwa 9 nm voneinander entfernt an den beiden Enden des L (Abb. 1.41b). Die beiden Seitenarme des Kleeblatts mit ihren Schleifen sind an der Knickstelle des Moleküls nach außen geklappt und enthalten Erkennungssignale für jene Enzyme, die jede einzelne tRNA hoch spezifisch mit ihrer Aminosäure beladen. Die Zuverlässigkeit dieser Enzyme, der **Aminoacyl-tRNA-Synthetasen**, gewährleistet die selbst für Standards moderner Technik außergewöhnlich hohe Präzision der Translation, ohne die ein Überleben von Zellen und Organismen nicht möglich wäre. Von den kleinsten Bakterien bis zu den größten Vielzellern sind Struktur von rRNAs und tRNAs grundsätzlich ähnlich. Auch ihre Funktion unterscheidet sich nicht. Ihre Sequenzen sind während der stammesgeschichtlichen Entwicklung der Lebewesen extrem stark konserviert worden. Sie sind daher besonders zuverlässige Zeugen der Evolution und gestatten die Rekonstruktion auch sehr weit zurückliegender phylogenetischer Prozesse. Beispielsweise ist die Sonderstellung und die große Heterogenität der Archaeen unter den Prokaryoten vor allem mithilfe von Sequenzvergleichen an rRNAs aufgedeckt worden.

Während der Translation werden mehrere bis viele Ribosomen (Monosomen) durch einen mRNA-Strang zusammengehalten und bilden dann ein **Polysom**

Abb. 1.41 Transfer-RNA (tRNA). **a** Kleeblattform mit vier Armen und drei Schleifen. 1 TΨC-Schleife (Ribothymidin-Pseudouridin-Cytidin; mit ihr bindet tRNA locker an die 5S-rRNA bzw. 5,8S-rRNA); 2 Anticodonschleife mit Anticodon (rot); 3 variable Schleife, bei verschiedenen tRNAs unterschiedlich groß bis fehlend; 4 DHU-Schleife (Dihydrouridin). Die voraktivierte Aminosäure wird an die CCA-Sequenz am 3'-Ende angehängt. Seltene Basen sind durch dickere Striche symbolisiert. **b** Räumliches Modell, L-Form





■ **Abb. 1.42** Ribosomen und Polysomen, isoliert aus Blütenknospen von *Narcissus pseudonarcissus*, Negativkontrast. **a** Monosomen. **b** Polysomen; stellenweise Aufbau der Ribosomen aus zwei ungleich großen Untereinheiten erkennbar (Maßstab 0,5 µm). (Präparate: R. Junker; EM-Aufnahmen: H. Falk)

(■ **Abb. 1.42a, b**). Polysomen sind also die eigentlichen Translationsorganellen. Sie kommen in zwei Formen vor:

Frei im Cytoplasma liegend sind sie schraubenförmig. Freie Polysomen synthetisieren vor allem die löslichen cytoplasmatischen Proteine. Hier werden aber auch mitochondriale, plastidäre und alle nucleären Proteine sowie die charakteristischen Enzyme von Peroxisomen translatiert, bevor sie später (posttranslational) an ihren Bestimmungsort transportiert werden (► Abschn. 6.5).

Zusätzlich kommen die Ribosomen an den Membranen des ER vor, wo sie zweidimensionale Figuren bilden, vorwiegend flache Spiralen (vgl. ■ **Abb. 1.48b**). Die Membrananheftung erfolgt hier an der großen Ribosomenuntereinheit, nahe der Austrittsstelle für die wachsende Polypeptidkette. Diese wird oft schon während ihrer Synthese durch die Membran hindurchgeschoben (**cotranslationaler Transport**). Auf diese Weise gelangen etwa Sekretproteine und lysosomale Enzyme in das Innere von ER-Zisternen. In anderen Fällen

bleibt die naszierende Polypeptidkette mit einer Serie von wenigstens 20 aufeinanderfolgenden hydrophoben Aminosäureresten in der Membran selbst dauerhaft verankert und wird so zu einem integralen Membranprotein (► Abschn. 1.2.6.2).

1.2.6 Plasmamembran – Werkzeug der Integrität

1.2.6.1 Biomembranen bilden fließende Grenzen

Biomembranen sind 4–5 nm dünne, flächige **Lipoproteinstrukturen**, die manche Moleküle hindurchlassen, andere jedoch nicht (**Semipermeabilität**, ► Abschn. 1.2.6.3). Gleichzeitig bilden sie in wässriger Umgebung lückenlos umschlossene Räume aus, da dieser Zustand energetisch günstiger ist (hydrophober Effekt). Trotz ihrer Flächigkeit sind sie also keine zweidimensionalen, sondern dreidimensionale Gebilde. Biomembranen sind zähflüssig. Werden sie aufgerissen, schließen sie sich als Konsequenz des hydrophoben Effekts sofort wieder, sie sind also mit der Fähigkeit zur Selbstheilung ausgestattet. Wird die Membran durch technische Eingriffe (z. B. eine Mikroinjektion) oder natürliche Faktoren (etwa durch Angriff eines Pathogens) durchstoßen, stellt sie ihre Integrität selbst wieder her. Diese molekularen Eigenschaften bedingen auch die Funktion von Biomembranen: Sie sind die fließende Grenze der gesamten Zelle (**Plasmamembran**, Zellmembran) und trennen innerhalb der Zelle verschiedenartige **Kompartimente** gegeneinander ab.

Membranen entstehen in der Zelle nicht neu (*de novo*), sondern leiten sich stets von bereits vorhandenen Membranen ab. Die Membranbiogenese beruht auf Flächenwachstum vorhandener Membranen durch Einbau neuer Moleküle. Die beiden wichtigsten Bausteine von Biomembranen, Strukturlipide und Membranproteine, werden vor allem am ER synthetisiert. Von hier aus können sie über Vesikelströme in Golgi- und Vakuolenmembranen oder zur Plasmamembran gelangen. Ebenso gibt es einen **Membranfluss** zu den äußeren Hüllmembranen von Plastiden und Mitochondrien, während die inneren Membranen dieser Organellen immer abgetrennt bleiben (die inneren Membranen von Mitochondrien und Plastiden unterscheiden sich deutlich in ihrer stofflichen Zusammensetzung von allen anderen Membranen der Zelle).

1.2.6.2 Die molekularen Komponenten von Biomembranen

Man kann viele Aspekte von Biomembranen mit künstlich hergestellten bimolekularen Filmen aus **Strukturlipiden** simulieren. Solche künstlichen Membranen sind in Bezug auf Dicke, Fluidität und Semipermeabilität

sehr ähnlich, ermöglichen aber keinen spezifischen und aktiven Membrantransport. Auch sind Außen- und Innenseite von bimolekularen Lipidfilmen identisch, während sie sich bei Biomembranen unterscheiden. Diese Unterschiede gehen darauf zurück, dass Biomembranen mit besonderen **Membranproteinen** ausgestattet sind, die für die unterschiedlichen Leistungen der einzelnen Membranen einer Zelle verantwortlich sind. Das Massenverhältnis Protein/Lipid liegt im Normalfall bei 3:2, obwohl deutliche Abweichungen von dieser Zahl möglich sind. In proteindominierten Membranen wie der inneren Mitochondrienmembran kann der Proteinanteil 70 % übersteigen, während er in lipiddominierten Membranen wie denen von membranösen Chromoplasten (► Abschn. 1.2.9.2) bei weniger als 20 % liegt.

Es gibt zwei Sorten von Membranproteinen: **Periphere** (extrinsische) **Membranproteine** sitzen der Lipiddoppelschicht nur oberflächlich auf und werden durch elektrostatische Wechselwirkungen mit den polaren Köpfen der Membranlipide festgehalten. Mit den unpolaren Kohlenwasserstoffketten der Lipide kommen diese Proteine nicht in Berührung. Daher können sie leicht, etwa durch Erhöhung der Ionenkonzentration, von der Membran abgelöst werden. Manche dieser peripheren Membranproteine sind allerdings über die Kohlenwasserstoffketten kovalent gebundener Fettsäuren oder Prenyllipide fest in Membranen verankert. **Integrale** (intrinsische) **Membranproteine** erstrecken sich durch das polare Innere der Lipiddoppelschicht von Biomembranen hindurch und werden deshalb auch als Transmembranproteine bezeichnet. Sie können aus Membranen nur unter Zerstörung der Lipiddoppelschicht, in der Regel mithilfe von Detergenzien, isoliert werden. Die Transmembranregionen solcher Proteine sind hydrophob. Oft handelt es sich dabei um α -helikale Abschnitte aus 20–25 Aminosäuren mit unpolaren Seitenketten wie Leucin, Isoleucin, Valin oder Alanin. Es gibt integrale Membranproteine mit mehreren Membrandurchgängen und entsprechend vielen hydrophoben α -Helix-Domänen (Bakteriorhodopsin: 7, manche Ionenkanäle: bis 24). Die integralen Membranproteine sind durch den hydrophoben Effekt in der Lipiddoppelschicht der Membran verankert, der auf unmittelbaren Wechselwirkungen der Proteine mit den unpolaren Kohlenwasserstoffketten der Lipidmoleküle beruht. Die Domänen der Transmembranproteine, die zu beiden Seiten aus der Membran ragen, weisen eine hydrophile Oberfläche auf. Viele auf der Membranaußenseite liegende Domänen von Transmembranproteinen sind glykosyliert, tragen also kovalent gebundene Zuckerreste oder Oligosaccharidketten.

Im EM erscheinen querschnittene Biomembranen als feine Doppellinien (■ Abb. 1.43A, B), ein Ausdruck ihrer Doppelschichtigkeit. Integrale Membranproteine

werden in Gefrierbruchpräparaten als **Innermembranpartikel** sichtbar.

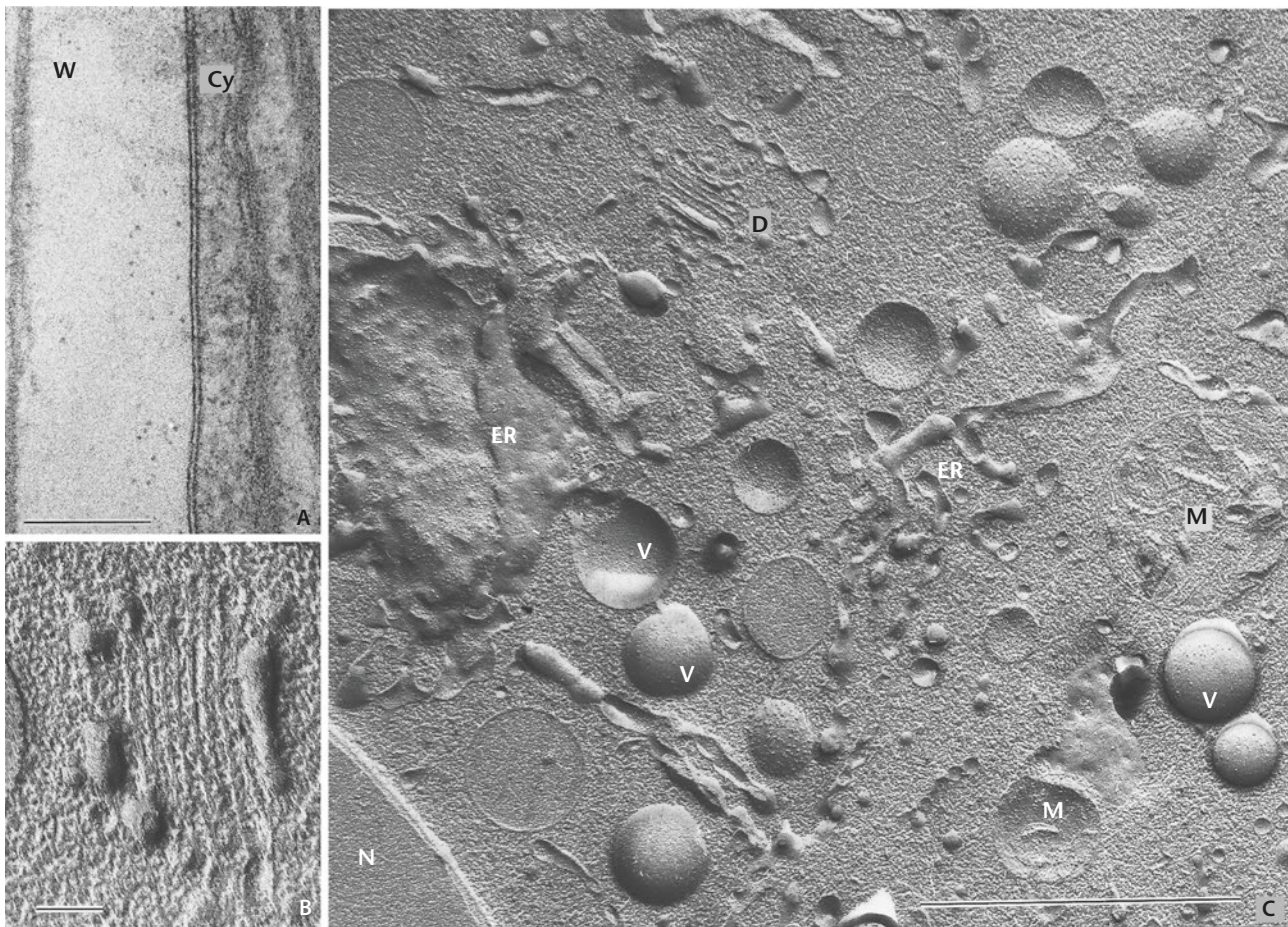
1.2.6.3 Fluidmosaikmodell

Das von Singer und Nicholson entwickelte **Fluidmosaikmodell** beschreibt die Biomembran als ein sich ständig veränderndes Mosaik von Transmembranproteinen, die in einem flüssigen Doppelfilm aus Strukturlipiden mehr oder minder beweglich sind (■ Abb. 1.44). Obwohl sich wegen des fluiden Zustands von Biomembranen integrale Membranproteine, genauso wie Lipidmoleküle, in der Membranfläche um ihre senkrecht zur Membranfläche stehende Achse drehen und seitlich verschieben können (**laterale Diffusion**), ist ein Umklappen der Moleküle auf die andere Membranseite (Flip-Flop) wegen der hydrophoben Wechselwirkungen im Inneren der Membran energetisch sehr ungünstig. Es kann also weder ein Lipidmolekül, das sich in einer der beiden Schichten der Lipiddoppelschicht befindet, ohne Hilfe von Carrierproteinen (**Lipid-Transfer-Proteine**) in die andere Schicht gelangen, noch können die hydrophilen Domänen eines integralen Membranproteins beidseits der Transmembrandomäne ihre Position vertauschen. Biomembranen sind daher asymmetrisch – Zusammensetzung und Eigenschaften der äußeren und inneren Oberfläche sind unterschiedlich.

Wenn die Fluidität einer Membran zurückgeht, weil etwa die Temperatur absinkt, besteht die Gefahr, dass in dem flüssigen Mosaik Lücken entstehen und damit die Fähigkeit der Membran, einen Raum lückenlos zu umschließen, beeinträchtigt wird. Daher wird der fluide Zustand der zellulären Membranen bei Temperaturänderungen aktiv erhalten. Dies lässt sich z. B. durch vermehrte Einlagerung von Sterolipiden oder ungesättigter Fettsäuren erreichen. Beide Komponenten verhindern aufgrund ihrer sterischen Sperrigkeit, dass die Kohlenwasserstoffketten der Lipidfettsäuren zu dicht gepackt werden, und halten damit die Membran flüssig. Bei Organismen, die in kalter Umgebung leben, werden daher vermehrt ungesättigte Fettsäuren in Membranlipide eingebaut. So werden statt der gesättigten (doppelbindungs-freien) Stearinsäure die einfach ungesättigte Ölsäure mit einer Doppelbindung, die zweifach ungesättigte Linolsäure, die Linolensäure mit drei oder die Arachidonsäure mit vier Doppelbindungen im Fettsäurerest zur Lipidsynthese herangezogen. Das wertvollste Leinöl (mit vielen Doppelbindungen) stammt dementsprechend aus Anbaugebieten mit kühlem Klima.

1.2.6.4 Struktur und Funktion der Plasmamembran

Die **Plasmamembran** (Zellmembran, Plasmalemma) ist wegen ihres Glykoproteinanteils dicker und dichter als die übrigen zellulären Membranen und unterscheidet sich auch durch ihre Ladung von ihnen, was es erlaubt, Plasmamembranen über ein Phasensystem aus Dextran und Polyethylenglykol von anderen Membranen abzutrennen. Sie erhält die Integrität der Zelle und erlaubt es, im Cytoplasma ein chemisches Milieu aufrechtzuerhalten, das sich von dem der Umwelt deutlich unterscheidet.

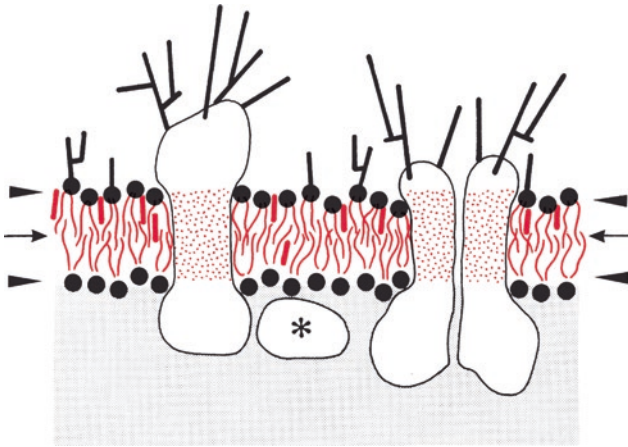


■ **Abb. 1.43** Biomembranen im EM. **A** Trilaminare Zellmembran zwischen Zellwand und Cytoplasma der Alge *Botrydium granulatum* nach Glutaraldehyd-OsO₄-Fixierung. **B** Trilaminarer Aspekt nichtfixierter Membranen eines Dictyosoms nach Gefrierbruch (quer, embryonale Zelle der Zwiebelwurzelspitze). (Maßstäbe in A, B 0,1 µm.) **C** Teilansicht einer Wurzelmeristemzelle der Küchenzwiebel im Gefrierbruchpräparat: zahlreiche Membranen im Querbruch, sowie in Flächenansicht mit Innermembranpartikeln, deren Zahl pro Flächeneinheit ein Charakteristikum der jeweiligen Membransorte ist. (Maßstab 1 µm.) – Cy Cytoplasma, D Dictyosom, ER endoplasmatisches Reticulum, M Mitochondrien, N Zellkern, V Vakuolen, W Zellwand. (a EM-Aufnahme: H. Falk; b, c Präparate und EM-Aufnahmen: V. Speth)

det. Wird die Plasmamembran dauerhaft durchstoßen oder chemisch aufgelöst, stirbt die Zelle schnell ab.

Man darf sich die Plasmamembran nicht als statisches Gebilde vorstellen. Vielmehr steht sie in fortwährendem Membranfluss mit den inneren Membranen (► Abschn. 1.2.7.5). Es werden ständig Vesikel zur cytoplasmatischen Seite hin abgeschnürt (**Endocytose**), während andere Vesikel auf der Innenseite mit der Plasmamembran verschmelzen und so ihren Inhalt nach außen freigeben (**Exocytose**). Bei Epidermiszellen von Hafercoleoptilen wird die Plasmamembran alle 3 h komplett ausgetauscht. Die Integrität der Zelle muss also unter erheblichem Energieaufwand erhalten werden. Beispielsweise werden manche Ionen (etwa Protonen) unter ATP-Verbrauch durch spezifische Pumpen aus der Zelle hinaus- und andere hineingepumpt und dadurch eine kontrollierte Membranspannung aufrechterhalten.

Die Plasmamembran ist auch der Ort, wo zahlreiche Signalübertragungsvorgänge beginnen. Zahlreiche **Rezeptorproteine** sind in der Lage, nach Bindung eines spezifischen **Liganden** Konformationsänderungen zu vollziehen, die auf der Innenseite der Zelle spezifische Signalleitungsvorgänge auslösen. So können Pflanzenzellen über einen spezifischen Rezeptor **Flagellin** (den Baustein bakterieller Geißeln) wahrnehmen, wodurch ein **Calciumkanal** in der Plasmamembran aktiviert wird. Der Calciumeinstrom schaltet über mehrere Zwischenschritte eine MAP-Kinase-Kaskade an, die eine Pathogenattacke signalisiert und im Zellkern die Aktivierung von **Abwehrgenen** hervorruft. Ein weiterer wichtiger Signalgeber für die Stressabwehr bei Pflanzen ist die Aktivierung einer membranständigen **NADPH-Oxidase**, die auf der Außenseite von Pflanzenzellen zur Bildung von Superoxidanionen führt, was über mehrere Zwischenschritte und unter Beteiligung von membranständigem



■ **Abb. 1.44** Querschnitt durch eine Zellmembran nach dem Fluidmosaikmodell (schematisch). Die zähflüssige Lipiddoppelschicht ist von integralen Membranproteinen durchsetzt (rechts ein Dimer), deren extraplasmatische Domänen unverzweigte und/oder verzweigte Glykanketten tragen. Auch die Glykanketten von Glykolipiden stehen von der extraplasmatischen Seite der Membran nach außen ab. An der cytoplasmatischen Seite sind weder Lipide noch Proteine glykosyliert. In die unpolaren Bereiche der Lipiddoppelschicht (rot) sind Sterollipide eingelagert; die Transmembrandomänen der integralen Membranproteine sind an ihrer Außenseite hier ebenfalls hydrophob. * peripheres Membranprotein; Pfeile: Spaltfläche bei Gefrierbruch. Pfeilköpfe: bevorzugte Einlagerung kontrastgebender Osmiumatome, wodurch der trilaminare Aspekt querschnittener Biomembranen im EM entsteht (vgl. ■ Abb. 1.43A). Alle beteiligten Moleküle sind in thermischer Bewegung, in der Membranebene wechseln sie ständig ihren Platz und rotieren senkrecht zur Membranebene um ihre Achse. Dagegen ist das Umklappen von Lipid- oder Proteinmolekülen auf die andere Membranseite (Flip-Flop) ein sehr seltenes Ereignis

Actin ebenfalls die Expression spezifischer Gene induziert. Auch im Zusammenhang mit Wachstum und Entwicklung ist die Plasmamembran von Pflanzenzellen ein wichtiger Ort für die Signalwahrnehmung. So wird das zentrale Pflanzenhormon **Auxin** über einen Effluxcarrier bevorzugt an einem Pol der Zelle ausgeschleust, wodurch ein gerichteter Hormonstrom entsteht, der die Pflanze von oben nach unten durchzieht und zahlreichen Entwicklungsvorgängen eine räumliche Ausrichtung verleiht.

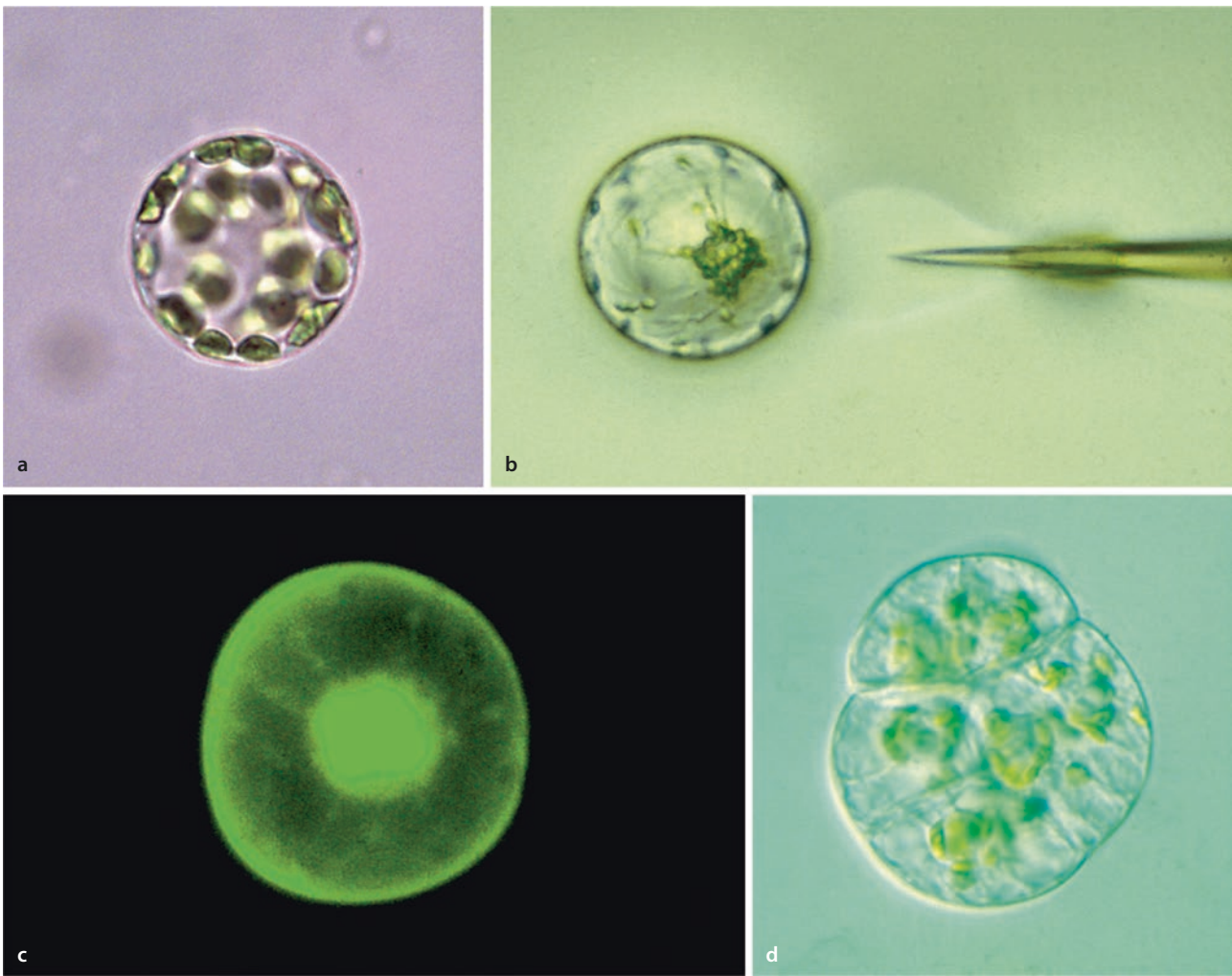
Über einen Verdau der Zellwände mit Pektinasen und Cellulasen lassen sich wandlose **Protoplasten** herstellen (■ Abb. 1.45). Obwohl diese Protoplasten nach außen nur durch die dünne Plasmamembran umgrenzt sind, bleiben sie voll lebensfähig, wenn man dafür sorgt, dass innen und außen dieselben osmotischen Verhältnisse herrschen, was man experimentell durch die Zugabe von Mannitol erreichen kann. Wenn man die zellwandverdauenden Enzyme auswäscht, können Protoplasten nach einigen Tagen eine neue Zellwand bilden und es lässt sich sogar eine ganze Pflanze daraus regenerieren. Protoplasten können zur **Zellfusion** ange-regt werden, indem man die Plasmamembran durch

Polyethylenglykol oder durch elektrische Spannungsstöße für kurze Zeit perforiert, sodass die Plasmamembranen der beiden Zellen bei Berührung verschmelzen (■ Abb. 1.46). Auf diese Weise können **Zellhybride** (**Cybride**) unterschiedlicher Pflanzen erzeugt werden. Aus diesen Zellhybriden können Pflanzen regeneriert werden, die auf natürliche Weise nie entstanden wären. Bekanntestes Beispiel ist die Tomoffel, die durch Fusion von Protoplasten aus Tomate und Kartoffel (beides Vertreter der Nachtschattengewächse und sehr regenerationsfreudig) entstanden ist.

1.2.7 Endomembransystem – Werkzeug der Kompartimentierung

1.2.7.1 Membranen als Kompartimentgrenzen

Die Existenz von Zellen und zellulären Kompartimenten wäre ohne die **Barrierewirkung** von Membranen undenkbar. Biomembranen haben daher vor allem die Funktion, die freie Diffusion zu unterbinden und so Reaktionsräume mit unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung zu schaffen. Andererseits ist Leben aber nur in offenen Systemen möglich, weil bestimmte Stoffe aus der Umgebung aufgenommen und andere abgegeben werden müssen. Die Barrierewirkung von Biomembranen beruht vor allem auf der Lipiddoppelschicht, die selektive Durchlässigkeit für ausgewählte Ionen oder Moleküle wird durch integrale Membranproteine bewerkstelligt, die entweder **Kanäle**, **Carrier** oder **Pumpen** sein können. Kanäle bilden mithilfe hydrophober Aminosäuren Poren durch die Membran; durch ihren Durchmesser, bestimmte Ladungen oder spezielle Deckelstrukturen sind sie häufig für bestimmte Frachten selektiv. Vor allem Ionenkanäle sichern ein kontrolliertes zelluläres Milieu und tragen auch zu einer ausgeprägten Membranspannung bei. **Carrier** (auch als Translokatoren oder Permeasen bezeichnet) erkennen und binden ihre Substrate mithilfe sterischer Passformen (analog der spezifischen Bildung von Enzym-Substrat-Komplexen) und verlagern sie unter Konformationsänderung durch die Membran (■ Abb. 14.6). Der Transport folgt dem Konzentrationsgefälle der Fracht oder nutzt den Konzentrationsgradienten eines anderen Moleküls. Im Gegensatz dazu sind **Pumpen** in der Lage, eine Fracht unter Energieaufwand (Spaltung von ATP) „stromaufwärts“, also entgegen dem Konzentrationsgefälle, zu transportieren (energieabhängiger, **aktiver Transport**). Jede zelluläre Membran trägt eine unterschiedliche Ausstattung solcher Kanäle, Carrier und Pumpen und stellt so ein chemisches Milieu des entsprechenden Kompartiments sicher, das zur Charakterisierung genutzt werden kann (■ Tab. 1.3).



■ **Abb. 1.45** Protoplasten, künstlich hergestellt durch enzymatischen Verdau der Zellwände. **a** Protoplast aus dem Mesophyllgewebe (mit Chloroplasten) von *Nicotiana tabacum* nach Abkugelung des Protoplasten in 0,6 M Sorbitol (200 ×). **b, c** Mikroinjektion in einen Protoplasten von *Nicotiana tabacum*; **b** vor und **c** nach der Injektion von Dextran-FITC in das Cytoplasma des Protoplasten; deutlich sichtbar gefärbtes Cytoplasma (C Fluoreszenzmikroskopie). **c** Aus Protoplast in Zellkultur durch Teilung entstehende Zellklone (Regeneration) (B, C 200 ×)

Werden die oft sehr hohen Konzentrationsunterschiede an Kompartimentgrenzen (z. B. durch Gifte, Ionophoren oder bestimmte Antibiotika) nivelliert, hat das häufig den Zelltod zur Folge. Auch **Membranpotenziale**, die im Leben aller Zellen eine wichtige Rolle spielen, beruhen auf der unterschiedlichen Ionenausstattung benachbarter Kompartimente. Aus den Membranpotenzialen (Größenordnung 100 mV) resultieren wegen der geringen Dicke der Lipiddoppelschicht (4 nm) elektrische Feldstärken um $100.000 \text{ V cm}^{-1}$. Das Membranpotenzial liegt damit an der Grenze der Durchschlagsspannung für Lipiddoppelschichten.

Biomembranen sind allerdings keine perfekten Diffusionsbarrieren. Viele lipophile Gifte, Narkotika und dergleichen können sich in der Lipiddoppelschicht lösen und sogar konzentrieren, sodass die Membran für die Wirkstoffe kein Diffusionshindernis darstellt. Selbst polare Teilchen können passieren, wenn sie klein genug sind (<70 Da). Die

Membran wirkt wie ein Filter mit einer mittleren Porenweite von 0,3 nm. Als Poren fungieren dabei kurzlebige Störstellen, wie sie sich bei den thermischen Bewegungen der Lipidmoleküle in den fluiden Membranen immer wieder von selbst ergeben. Die vergleichsweise hohe Durchlässigkeit für Wasser beruht allerdings in vielen Fällen auf dem Vorhandensein von **Aquaporinen**, die 0,4 nm weite Transmembrankanäle für Wassermoleküle bilden (■ Abb. 14.10). Durch einen solchen Kanal können, wenn er durch Phosphorylierung des Aquaporins geöffnet wurde, weder Ionen noch Metaboliten hindurchtreten, wohl aber bis zu 4 Mrd. Wassermoleküle in der Sekunde.

Wenn sich der pH-Wert zweier benachbarter Kompartimente unterscheidet, kann es vorkommen, dass ungeladene und wenig polare Moleküle, die in das Zielkompartiment gelangen, dort aufgrund der geänderten Protonenkonzentration eine Ladung annehmen und das Zielkompartiment nicht mehr verlassen können – sie bleiben in diesem Kompartiment gefangen (**Ionenfalle**). Dieses Phänomen ist als Sonderfall

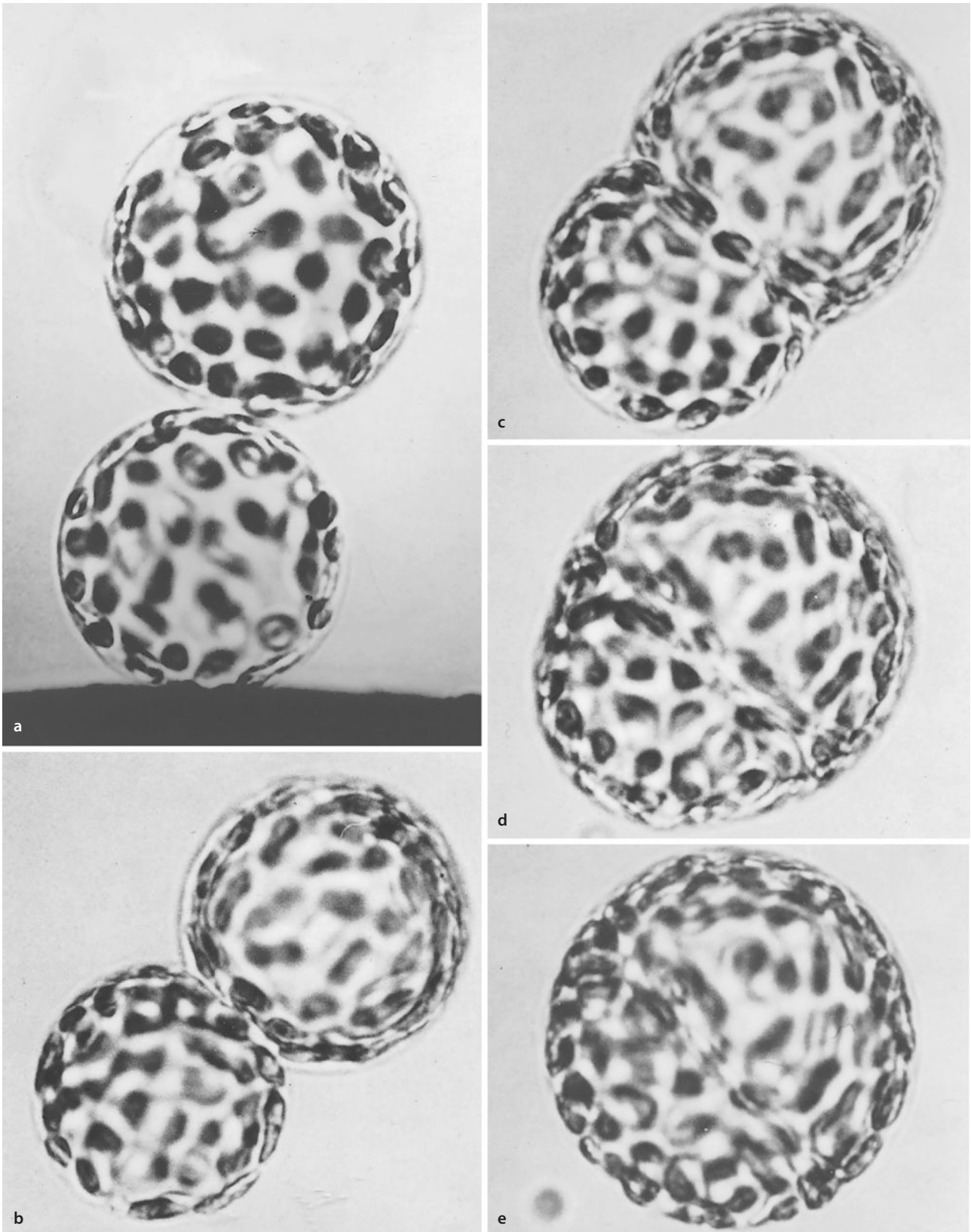


Abb. 1.46 Elektrofusion von Protoplasten des Laubmooses *Funaria hygrometrica* ($640\times$). Zwei sich an einer Elektrode berührende Protoplasten **a** werden durch einen Spannungstoß (Feldstärke 1 kV cm^{-1} , $70\ \mu\text{s}$) fusioniert **b–e**. Aus einer so entstandenen Hybridzelle kann in einigen Wochen ein neues Moospflänzchen heranwachsen. (Präparate und Mikroaufnahmen: A. Mejía; G. Spangenberg; H.-U. Koop; M. Bopp)

Tab. 1.3 Leitenzyme bzw. charakteristische Verbindungen zellulärer Membranen und Kompartimente

Zellkomponente	Leitenzym bzw. charakteristische Verbindung
Zellmembran	Cellulose-Synthase; Na ⁺ /K ⁺ -Pumpe
Cytoplasma	Nitrat-Reduktase; 80S-Ribosomen
Zellkern	Chromatin (lineare nucleäre DNA, Histone); nucleäre DNA- u. RNA-Polymerasen
Plasma und Kern	Actin, Myosin, Tubulin
Plastiden	Stärke u. Stärke-Synthase; zirkuläre ptDNA; Plastoribosomen (70S); Nitrit-Reduktase; in Chloroplasten: Ribulosebiphosphat-Carboxylase (Rubisco), Chlorophylle, Plastochinon, plastidäre ATP-Synthase
Mitochondrien	Fumarase, Succinat-Dehydrogenase, Cytochrom-Oxidase; Ubichinon; mitochondriale ATP-Synthase; zirkuläre mtDNA; Mitoribosomen (70S-Typ)
rER	SRP-Rezeptor; Ribophorine
Dictyosomen	Glykosyltransferasen
Vakuolen bzw. Lysosomen	saure Phosphatase, α -Mannosidase; verschiedene Speicher-, Gift- u. Farbstoffe (Proteine, Zucker, Säuren; Alkaloide, Glykoside, Ca-Oxalat; Flavonoide u. a. Chymochrome)
Oleosomen	Triacylglycerine

der **Lipidfiltertheorie** beschrieben. Diese besagt, dass polare Moleküle in Abhängigkeit von ihrer Größe durch hydrophile Poren der Membran diffundieren können (Siebwirkung), während unpolare Moleküle Membranen passieren können, indem sie sich in ihnen lösen. Abgesehen von den beiden Parametern Teilchengröße und Lipophilie sind diese beiden Formen der passiven Permeation unspezifisch und benötigen keine Erkennungsstrukturen (Rezeptoren) für bestimmte Moleküle. Ein Beispiel für eine Ionenfalle wäre die Anfärbung der sauren Zentralvakuole mit Neutralrot (Abb. 1.47, vgl. dazu auch Abb. 12.13). Dasselbe Prinzip spielt für den Transport des wichtigen Pflanzenhormons Indolelessigsäure (ein Auxin) eine bedeutsame Rolle und ist für die Selbstorganisation von Leitgewebe wichtig.

Die verschiedenen Membransysteme der Zelle hängen zwar nicht unmittelbar zusammen, können aber indirekt über Vesikelströme, durch **Membranfluss (Cytosen)**, miteinander kommunizieren. Basis für den Membranfluss ist eine strikt regulierte Fusion von Kompartimenten, die auf

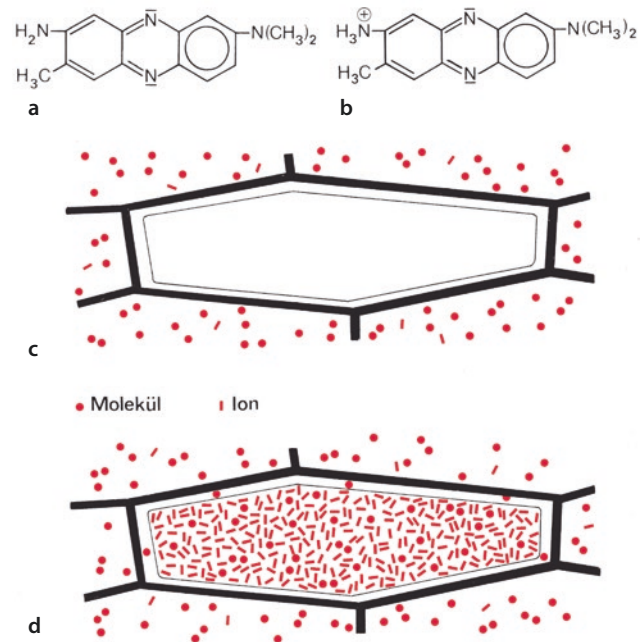


Abb. 1.47 Ionenfalle, Anreicherung von Neutralrot in der Vakuole einer Pflanzenzelle. Neutralrot liegt in alkalischer Lösung als lipophiles Molekül vor **a**, in saurer Lösung durch Anlagerung eines Protons dagegen als Farbkation **b**. **c** Ausgangssituation. Lebende Zelle in verdünnter Neutralrotlösung, pH 8 (Farbmoleküle als Punkte dargestellt, Farbkationen als Striche). **d** Endzustand. Farbmoleküle sind in die Vakuole (pH 5) eingedrungen, die sie als hydrophile Ionen nicht mehr verlassen können. Ein Gleichgewicht stellt sich erst ein, wenn das chemische Potenzial (das unter anderem von der Konzentration der Neutralrotmoleküle abhängt) innen und außen gleich ist. Das ist z. B. dann der Fall, wenn ein osmotisches Gleichgewicht erreicht ist oder der pH-Wert in der Vakuole so weit angestiegen ist, dass keine Protonierung der Neutralrotmoleküle mehr stattfinden kann. Dies ist bei einer mehr als 1000-fachen Anreicherung des Neutralrots (Ionenform) in der Vakuole der Fall

der Fusion von Membranen beruht. Da Biomembranen an der Grenzfläche zur wässrigen Umgebung polare Reste tragen, können sie nicht spontan fusionieren. Unter Energieaufwand müssen Abstoßungskräfte überwunden werden, wodurch der Prozess regulierbar ist. Vesikel tragen eine Erkennungsstruktur (v SNARES, v für *vesicle*), die an eine passende Bindungsstelle der jeweiligen Zielmembran (t SNARES, t für *target*) bindet. So wird sichergestellt, dass der Membranfluss in geordneten Bahnen verläuft und Kompartimente nicht unkontrolliert miteinander verschmelzen können (Abschn. 1.2.7.5 und 1.2.7.6). Bei der Bildung von Vesikeln und deren Transport spielt das Actincytoskelett eine bedeutende Rolle (Abb. 1.54a).

Da die meisten intrazellulären Membranen (**Endomembranen**) und die Zellmembran über einen Membranfluss miteinander in Verbindung stehen, gehören sie letztlich einem übergeordneten Membransystem an, zu dem auch die äußeren Membranen von Mitochondrien und Plastiden zählen. Im Gegensatz dazu bleiben die inneren Mitochondrienmembranen sowie die inneren Hüllmem-

branen und Thylakoide der Plastiden von diesem Membranfluss ausgeschlossen (sie werden später besprochen, ► Abschn. 1.2.9.2 und 1.2.10.1). Die Pflanzenzelle enthält demnach drei stets separierte Typen von Plasma: Cytoplasma (das Karyoplasma steht über die Kernporen damit in Verbindung, bildet also kein eigenes Kompartiment), die Mitochondrienmatrix und das Plastidenstroma. Diese Plasmotypen werden von drei Membransystemen umgrenzt, die nicht durch einen Membranfluss miteinander verbunden sind und deren Lipidzusammensetzung und Proteinausstattung charakteristische Unterschiede aufweisen. Auch die großen Vakuolen sind durch den Membranfluss mit dem Endomembransystem verbunden. Ähnlich wie die Plasmamembran trennen sie das Cytoplasma von einem chemisch stark abweichenden (stark sauren und proteasereichen) Reaktionsraum ab, der in dieser Hinsicht den **Lysosomen** in Tierzellen entspricht. Über Endocytose aufgenommene Moleküle können über Vesikelfluss in die Vakuole gelangen, ohne auch nur eine einzige Membran passieren zu müssen. Die Vakuolen lassen sich also gewissermaßen als internalisierter Außenraum der Zelle auffassen.

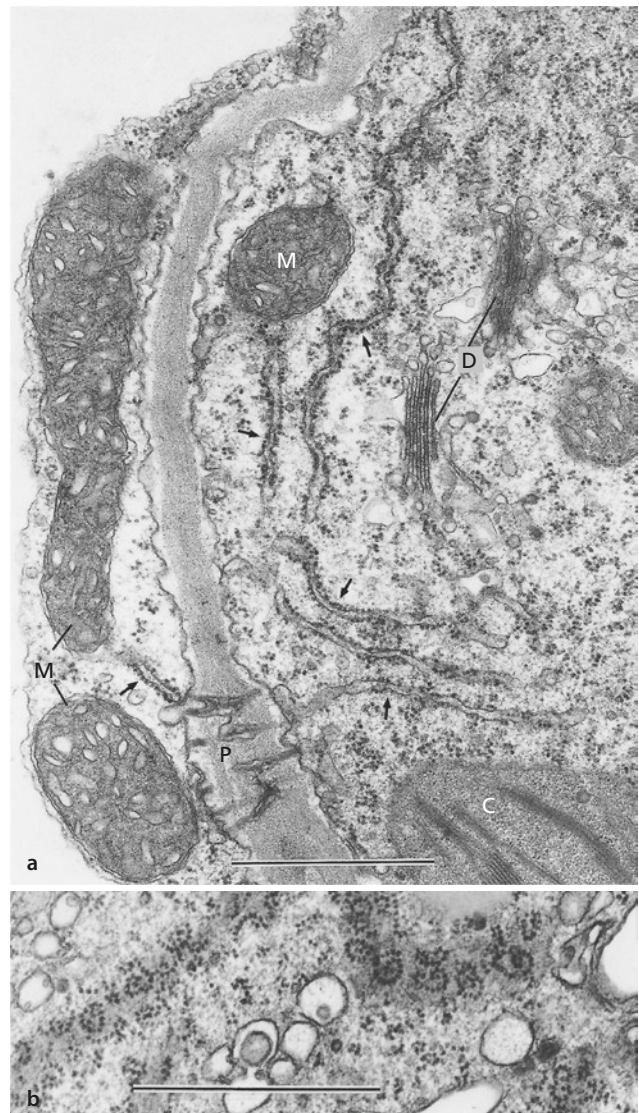
Vieles, was wir über die chemische Ausstattung der Kompartimente wissen, beruht auf der Möglichkeit, verschiedene Zellbestandteile chemisch über subzelluläre Fraktionierung aufzureinigen und danach biochemisch zu untersuchen (► Abschn. 1.1.4).

1.2.7.2 Endoplasmatisches Reticulum (ER)

Das ER tritt in zwei strukturell und funktionell verschiedenen Formen auf: als **raues (rER)** oder **glattes ER (sER)**; s von engl. *smooth*, glatt). Das mit Polysomen besetzte rER bildet ausgedehnte, flache Zisternen, die sich durch rasche Formveränderungen auszeichnen (■ Abb. 1.48 und 1.49). Dagegen ist das ribosomenfreie, glatte sER häufig ein Netzwerk verzweigter Membranröhren (■ Abb. 1.50).

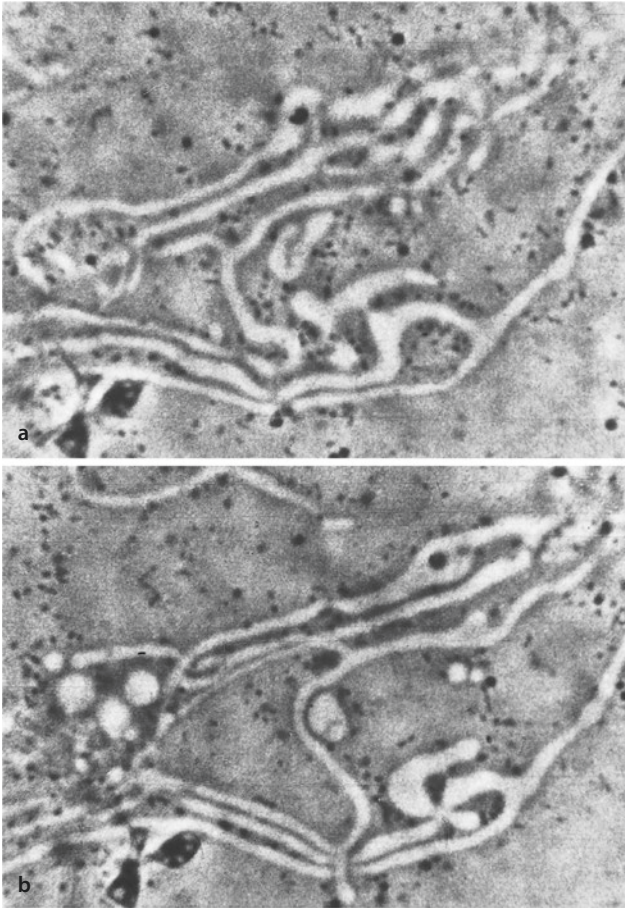
Am **rER** findet eine massive Proteinsynthese statt. Bei den von den membrangebundenen Polysomen gebildeten Proteinen handelt es sich entweder um integrale Membranproteine, um Proteine, die für das Lumen von Endomembran-kompartimenten (z. B. Vakuolen) bestimmt sind, oder solche, die nach außen abgegeben werden sollen (Sekretproteine = Exportproteine, z. B. Zellwandproteine). Die Membranen des rER sind die einzigen, die über Rezeptoren für Cytoribosomen verfügen und an ihrer cytoplasmatischen Seite Polysomen binden können.

Die Funktionen des **sER** sind vielfältiger. Es ist vor allem an der Lipid-, Flavonoid- und Terpenoidsynthese beteiligt (► Abschn. 14.14.1 und 14.14.2). Fettsäuren werden in Pflanzenzellen (im Gegensatz zu Tierzellen) vor allem in den Plastiden gebildet. Auch die Umformung der zunächst gesättigten Fettsäuren in ungesät-



■ **Abb. 1.48** Ribosomenbesetztes (raues) endoplasmatisches Reticulum. **a** Zisternen quer (Pfeile), neben Mitochondrien, Dictyosomen und Chloroplast; Plasmodesmen in einem primären Tüpfelfeld der Zellwand; Blattzelle der Garten-Bohne. **b** Flachgeschnittene rER-Zisternen mit spiraligen Polysomen im Pollenschlauch des Tabaks *Nicotiana tabacum*. (Maßstäbe 1 μm .) – C Chloroplast, D Dictyosomen, M Mitochondrien, P Plasmodesmen. (EM-Aufnahmen: A H. Falk; B U. Kristen)

tigte und der Einbau neu gebildeter Lipide in die Membranen ist in der Pflanzenzelle, wie in allen Eucyten, eine Funktion des sER. Synthetisiert werden Membranlipide, indem die Vorstufen (Acyl-CoA und Glycerin-3-phosphat) in die dem Cytoplasma zugewandte Schicht der ER-Membran inseriert und dort verestert werden. Diese Membranen enthalten spezielle Proteine, beispielsweise **Flippasen**, die das sonst praktisch abgeschlossene Umklappen (Flip-Flop) von Lipidmolekülen aus der cytoplasmatischen Schicht der Membran in die extraplasmatische katalysieren.

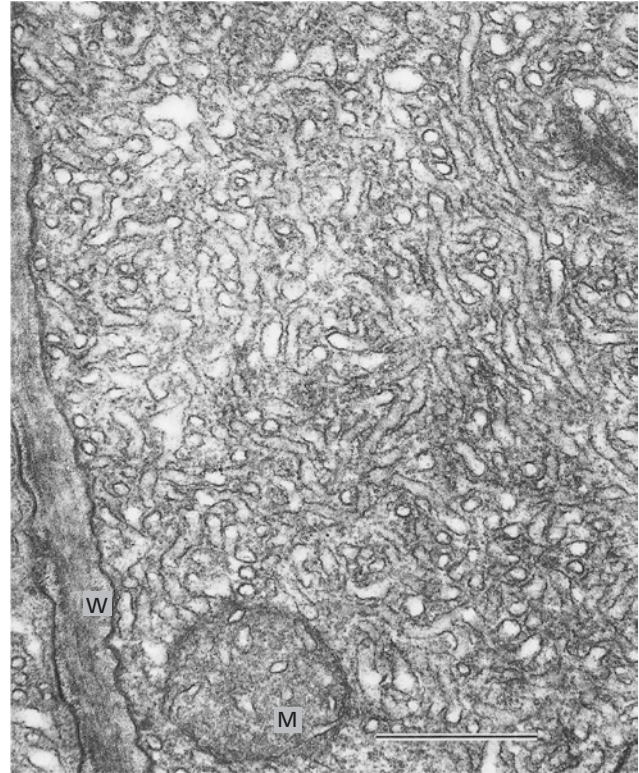


▣ **Abb. 1.49** a Endoplasmatisches Reticulum in einer lebenden Gewebekulturzelle von Tabak (940 ×). b 10,5 s nach a aufgenommen. In den Bildern sind neben dem ER auch Oleosomen, Mitochondrien und (links unten) Plastiden sichtbar. (Phasenkontrastaufnahmen: W. Url)

1.2.7.3 Der Weg nach außen: Exocytose

Exocytose kann auf mehreren Wegen erfolgen – vor allem bei Pflanzen zeigte sich in den letzten Jahren, dass es neben dem klassischen Weg noch andere Systeme gibt, etwa das EXPO-System (engl. *exocyst positive organelle*) oder das bei allen Eukaryoten vorhandene ESCRT-System (engl. *endosomal sorting complex required for transport*). Im Folgenden wird der klassische Weg geschildert, der für den Hauptteil der Exocytose verantwortlich ist.

In den Dictyosomen werden vor allem integrale Membranproteine und sekretorische Proteine modifiziert, sortiert und schließlich über Sekretvesikel (**Golgi-Vesikel**) entweder aus der Zelle geschleust oder in Vakuolen verlagert. Die Gesamtheit der Dictyosomen wird als Golgi-Apparat bezeichnet. Kleine Einzeller besitzen oft nur ein einziges Dictyosom. In größeren Zellen, vor allem von bestimmten Algen und Schleimpilzen, sind jedoch immer zahlreiche (in manchen Fällen bis über 1000) Dictyosomen vorhanden, die meist über das gesamte Cytoplasma verstreut sind. Dies unterscheidet



▣ **Abb. 1.50** Glattes ER einer Öldrüsenzelle der Klette *Arctium lappa* mit zahlreichen Quer- und Längsschnitten durch die gewundenen und verzweigten ER-Tubuli (Maßstab 0,5 µm). – M Mitochondrion, W Zellwand. (EM-Aufnahme: E. Schnepf)

sich von der Situation in den meisten Tierzellen. Man spricht daher von einem dispersen Golgi-Apparat.

Das typische **Dictyosom** wird von einem Stapel von **Golgi-Zisternen** gebildet. Es befindet sich oft in unmittelbarer Nachbarschaft zu einer ER-Zisterne oder der Kernhülle und ist parallel zu ihr orientiert (▣ Abb. 1.51b und 1.52). Die dem ER zugewandte Seite des Dictyosoms wird als **cis-Seite** oder proximale Seite bezeichnet, die von ihm abgewandte als **trans-Seite** oder distale Seite. An der **cis-Seite** bilden sich durch Zusammenfluss von Vesikeln neue Golgi-Zisternen, während an der **trans-Seite** Golgi-Vesikel gebildet und freigesetzt werden. In vielen Fällen ist die Randzone der distalen Golgi-Zisternen netzartig ausgebildet und bildet das **Trans-Golgi-Netzwerk (TGN)**. Gelegentlich werden nicht einzelne Vesikel abgegliedert, sondern ganze Zisternen blähen sich auf und wandern als Ganzes zur Zelloberfläche (▣ Abb. 1.52d).

Dictyosomen sind keine dauerhaften Gebilde. Sie können bei Bedarf vom ER aus neu gebildet werden. Die **Struktur der Dictyosomen** variiert bei verschiedenen Organismen und bei unterschiedlich differenzierten Zellen ein und desselben Vielzellers erheblich. In den Zellen trockener Samen finden sich im Cytoplasma anstelle von Dictyosomen Ansammlungen kleiner Membranve-

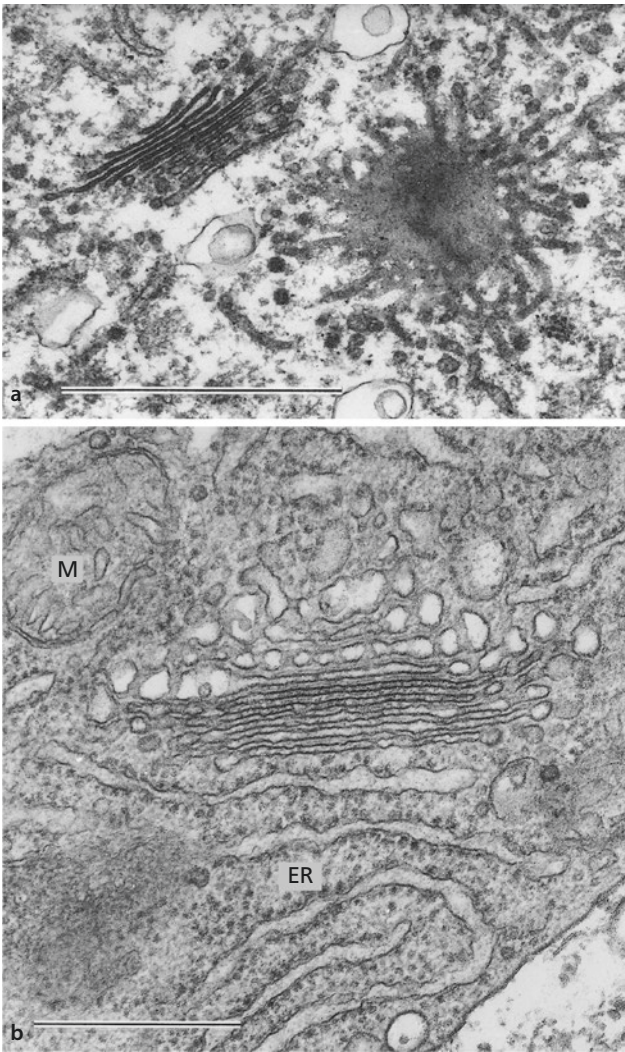


Abb. 1.51 Dictyosomen. **a** Je ein Dictyosom quer und flach geschnitten in einer Ligulazelle des Brachsenkrauts *Isoetes lacustris*; netzig-tubuläre Peripherie der Golgi-Zisternen und viele kleine Vesikel (Maßstab 1 µm). **b** Dictyosom quer in Drüsenzelle von *Veronica beccabunga*; *cis*-Seite unten, dem rER zugewandt; auf der *trans*-Seite zarte Golgi-Filamente zwischen den Zisternen erkennbar; äußere Zisternen der *trans*-Seite dilatiert und fenestriert (Trans-Golgi-Netzwerk) (Maßstab 0,5 µm). – M Mitochondrion. (EM-Aufnahmen: A U. Kristen; B J. Lockhausen; U. Kristen)

sikel oder -tubuli. Während bei den für die meisten Pflanzen typischen Dictyosomen die Zahl der Golgi-Zisternen zwischen vier und zehn schwankt, kann sie bei Protisten auf über 30 ansteigen.

In den Golgi-Zisternen werden **Oligo- und Polysaccharide** synthetisiert. Bei der subzellulären Fraktionierung gelten daher bestimmte Glykosyltransferasen (etwa die Galactosyltransferase; sie überträgt Galactoseeinheiten, sodass eine wachsende Glykankette entsteht) als Leitenzyme für den Golgi-Apparat. Diese Glykosyltransferasen wirken am Aufbau von Polysaccharide der Zellwandmatrix mit. Im Gegensatz dazu existieren für die Synthese von Reservopolysacchariden wie Stärke (Pflan-

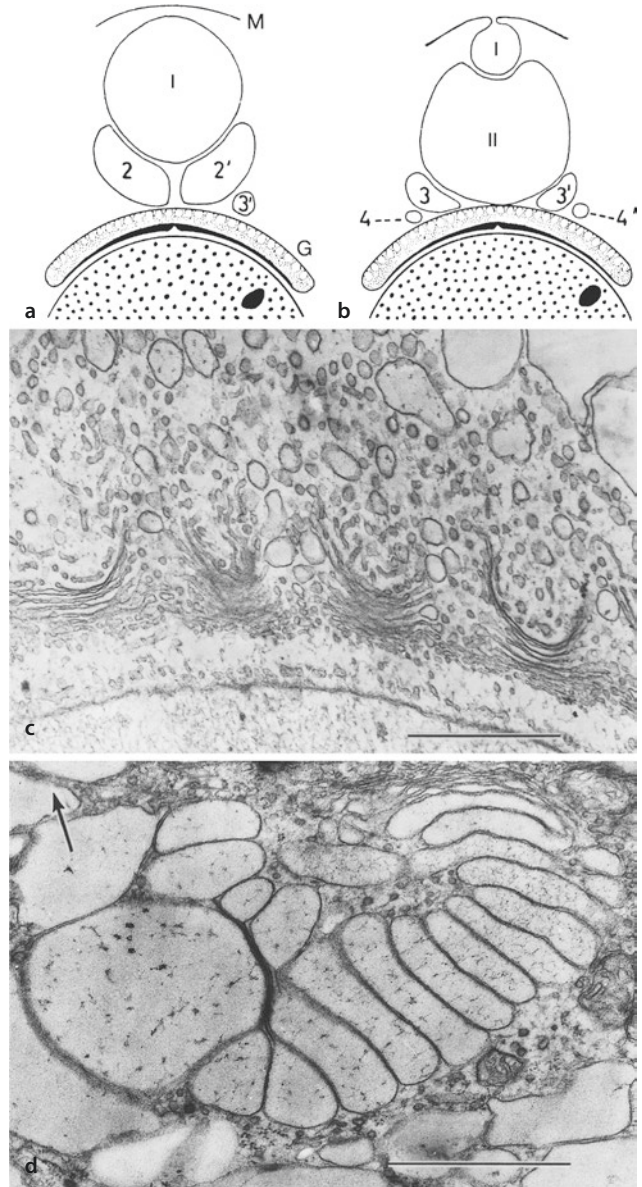


Abb. 1.52 Sekretion über den Golgi-Apparat. **a–c** *Vacuolaria virescens*. **a, b** Schema der Bildung und Exocytose wasserreicher Golgi-Vesikel (Vakuolen) in aufeinanderfolgenden Stadien; der komplexe Golgi-Apparat (fein punktiert, aus ca. 50 Dictyosomen aufgebaut) liegt dem Kern an (grob punktiert); römische Ziffern bezeichnen die durch Fusion kleinerer Vakuolen (arabische Ziffern) entstandenen, großen, pulsierenden Vakuolen. In 30 min wird so viel Wasser sezerniert, wie dem Volumen der Zelle entspricht. **c** Vier Dictyosomen des Golgi-Apparats, nach außen (oben) hin immer größer werdende Golgi-Vakuolen. **d** Bei der ebenfalls einzelligen Alge *Glaucocystis nostochinearum* blähen sich ganze Golgi-Zisternen unter Wasserabsorption auf und entleeren sich rhythmisch in Pfeilrichtung nach außen. (Maßstäbe in C, D 1 µm.) – G Golgi-Apparat, M Zellmembran. (a, b nach R. Poisson und A. Hollande c, d EM-Aufnahmen: E. Schnepf u. W. Koch)

zen) und Glykogen (Pilze, Tiere) eigene cytoplasmatische, plastidäre oder mitochondriale Enzymsysteme (► Abschn. 14.15.1). In den Golgi-Zisternen werden außerdem extraplasmatische Domänen integraler Memb-

ranproteine glykosyliert. Dieser Vorgang beginnt für die N-Glykosylierung bereits im Lumen des rER, während die O-Glykosylierung posttranslational im Dictyosom erfolgt. Exportproteine und integrale Proteine der Plasmamembran sind in der Regel Glykoproteine.

Durch die Abschnürung von Sekretvesikeln verliert das Dictyosom Membranmaterial. Da in Dictyosomen weder Lipide noch Proteine synthetisiert werden, muss neues Membranmaterial vom ER nachgeliefert werden. Das geschieht über **Transitvesikel** in genau reguliertem Ausmaß, sodass das Aussehen des Dictyosoms trotz ständiger Zu- und Abfuhr von Material unverändert bleibt. Dictyosomen sind dementsprechend dynamische Strukturen im Fließgleichgewicht und zeigen strukturelle sowie funktionelle Polarität: An der dem ER zugewandten *cis*-Bildungsseite werden aus Transitvesikeln neue Golgi-Zisternen aufgebaut, während an der *trans*-Sekretionsseite Golgi-Membranen durch die Abschnürung von Sekretvesikeln verloren gehen. Golgi-Membranen wandern also mit den von ihnen umschlossenen Sekretvorstufen durch den Zisternenstapel von *cis* nach *trans*, entweder als ganze Zisternen oder über Vesikelströme am Rand des Dictyosoms. Dabei nehmen die Höhe der Zisternen ab und die Membrandicke zu. Die membrangebundenen Enzymaktivitäten sind proximal (auf der dem Zellkern zugewandten Seite) und distal (auf der Außenseite) unterschiedlich. Durch die schrittweise Modifikation und Verlängerung von Oligo- und Polysaccharidketten steigt der Glykananteil des Prosekrets, während das Zisterneninnere gleichzeitig angesäuert wird. Die Reihenfolge der Zuckerreste in den Oligosaccharidketten von Glykoproteinen wird durch zeitlich und räumlich aufeinanderfolgende enzymatische Reaktionen, analog den Montageschritten entlang eines Fließbands, festgelegt.

Auch die im Golgi-Apparat gebildeten Sekrete sind sehr unterschiedlich und können über molekulare **Selbstorganisation** komplexe Formen ausbilden. Vor allem bei den einzelligen Protisten gibt es hier eine große Vielfalt: Zellwandschuppen (■ Abb. 19.38 und 19.46g), Mastigonemen von Flimmergeißeln (■ Abb. 19.26a, b und 19.47f) oder gar explosionsartig nach außen abschleuderbare, manchmal giftige „Geschosse“ zur Feindabwehr oder Beutebetäubung, wie die Ejectosomen oder Trichocysten einzelliger Cryptophyten und Dinophyten. Oft werden im Golgi-Apparat besonders wasserreiche Polysaccharidschleime zur Sekretion hergestellt.

Ein eigenartiger Sonderfall von Golgi-Sekretion ist die **aktive Wasserab-scheidung**. Alle im Süßwasser lebenden Protisten ohne feste Zellwand nehmen ständig osmotisch Wasser auf. Da ihnen der Gegen-druck einer Zellwand fehlt, müssten sie eigentlich anschwellen und schließlich platzen. Bei diesen Organismen hat sich daher der bei allen Zellen vorhandene Vesikelfluss zu einer eigenartigen Organelle verdichtet. Diese pulsierende Vakuole (engl. *contractile vacuole*) nimmt aus sternartig zusammenlaufenden Kanälen unter Energieverbrauch (mithilfe des Actomyosinsystems) Wasser auf und gibt es periodisch durch einen kurzzeitig geöffneten Kanal unter Kontraktion nach außen ab. Bei marinen Einzellern fehlt dieses Organell – hier besteht

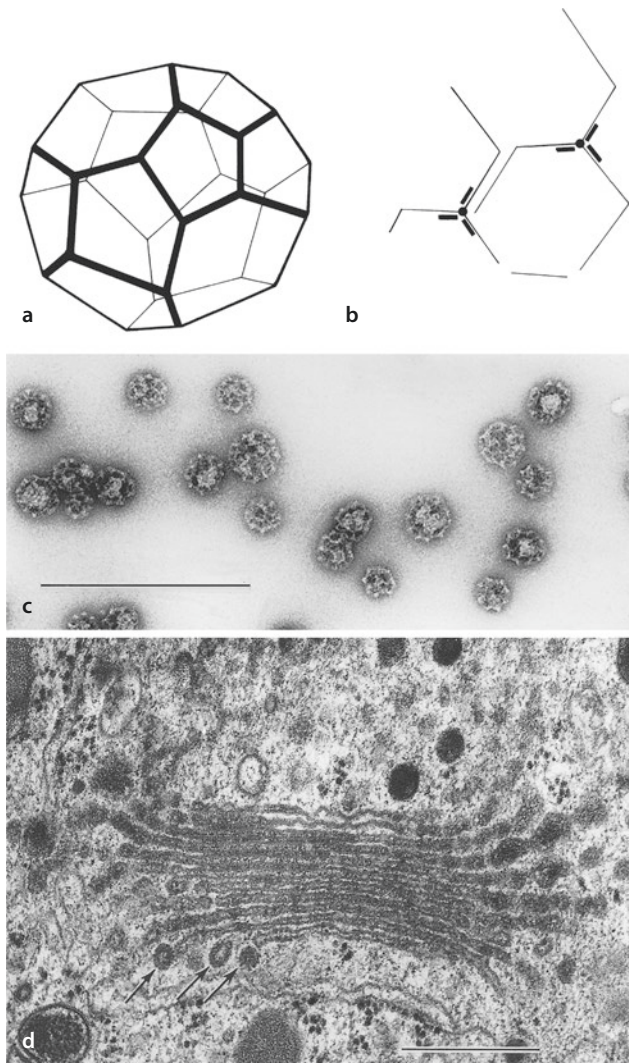
auch keine Notwendigkeit dazu, da das osmotische Potenzial der Umgebung aufgrund des gelösten Salzes negativer ist als im Zellinneren.

Bei der einzelligen Alge *Vacuolaria* übernehmen zahllose Dictyosomen die Funktion der Wasserabscheidung. Sie bilden unmittelbar außerhalb der Kernhülle einen ausgeprägten perinucleären Golgi-Apparat. Ständig in großer Zahl gebildete Golgi-Vesikel, die einen extrem wasserreichen Schleim enthalten, verschmelzen in rascher Folge zu immer größeren Sekretvakuolen, die schließlich exocytotiert werden (■ Abb. 1.52).

1.2.7.4 Der Weg nach innen: Endocytose

Durch **Endocytose** kann die Zelle Moleküle aus ihrer Umgebung durch Einstülpung von Membranvesikeln aufnehmen. So können Moleküle, die an der Außenseite der Zellmembran durch spezifische Rezeptoren gebunden wurden, über **Coated Vesicles (CV)** aufgenommen und entweder zum ER oder zur Vakuole transportiert, oder aber wieder in einem Kreislauf zur Plasmamembran zurückgebracht werden. Coated Vesicles finden sich in Pflanzenzellen daher häufig im Bereich der Zellmembran, aber auch in der Umgebung der Dictyosomen (■ Abb. 1.53d). Sie spielen eine wichtige Rolle beim Recycling von Membranen und Rezeptoren (beispielsweise bei dem oben erwähnten Effluxcarrier für Auxin) oder dienen der intrazellulären Membran- und Stoffverschiebung. Viele Einzeller und die meisten Tierzellen können sogar mikroskopische Nahrungspartikel endocytotisch aufnehmen und im Zellinneren verdauen. Diese Phago-cytose kommt bei den bewandeten Pflanzenzellen nicht vor, obwohl sie ansonsten eine sehr intensive Endocytose aufweisen.

Coated Vesicles (■ Abb. 1.53) gehören mit Durchmesser um 0,1 µm zu den kleinsten Zellkompartimenten überhaupt. Sie besitzen ein plasmaseitiges Membranskelett, die Hülle (engl. *coat*). Je nach Proteinzusammensetzung der Hülle werden verschiedene CV-Klassen unterschieden. Für die pflanzliche Endocytose und den Vesikelverkehr zwischen Dictyosomen und Vakuolen sind vor allem die **Clathrin-Coated-Vesicles (CCV)** relevant. Die wabenartige Käfigstruktur, die das Hüllprotein **Clathrin** (griech. *kláthron*, Gitter) um ein CCV bildet, wird aus Clathrintrimeren (Triscelions) aufgebaut (■ Abb. 1.53b). Aufbau und Abbau werden durch Begleitproteine gesteuert. Die Bildung von CCV während der Endocytose wird durch Anlage eines Wabenmusters aus Clathrin an der Innenseite der Zellmembran eingeleitet. An diesem Prozess sind Adaptine beteiligt. Dabei wird eine Region der Plasmamembran definiert und senkt sich dann grubenartig nach innen ein (Coated Pits, von engl. *pit*, Grube). In Pflanzenzellen können über 7 % der Zellmembranfläche mit solchen Clathrinpolygonen besetzt sein. Die Bildung von Coated Pits und ihre Abschnürung als CCV erfordert insbesondere in Pflanzenzellen viel Energie, weil gegen den Turgordruck Arbeit geleistet werden muss (vergleichbar mit einem lokalen



■ **Abb. 1.53** Coated Vesicles (CV) und Clathrin. **a** Schema eines Clathrinvesikels. **b** Drei Triscelions (eines davon in Farbe) als Bauelemente der fünf- und sechseckigen Gitterstruktur. Jedes Triscelion besteht aus drei schweren Ketten (je 180 kDa, 50 % α -Helix; geknickte Arme) und drei leichten (je 35 kDa); an jeder Kante des Clathrinkäfigs laufen vier schwere Ketten entlang, die leichten Ketten befinden sich in den Ecken. **c** Aus dem Hypokotyl von Zucchini (einer Kulturform des Kürbis *Cucurbita pepo*) isolierte CV im Negativkontrast. **d** CV (Pfeile) an einem Dictyosom der Zieralge *Micrasterias* (beachte auch den einseitigen Ribosomenbesatz der ER-Zisterne gegenüber der *cis*-Seite des Dictyosoms). (Maßstäbe in C, D 0,5 μm). (c Präparat und EM-Aufnahme: D.G. Robinson; d EM-Aufnahme: O. Kiermayer)

Eindrücken eines voll aufgepumpten Fahrradschlauchs). Dementsprechend wird die Endocytose vor allem in Pflanzenzellen mit niedrigem Turgor beobachtet (Wurzelhaare, Endospermzellen, künstlich hergestellte Protoplasten). An der Abschnürung von CCV ist die GTPase **Dynamamin** beteiligt. Viele Aspekte der Endocytose bei Pflanzen stimmen mit dem überein, was man von anderen Organismen weiß (der Vesikeltransport wurde vor allem an Hefezellen untersucht, die sehr gut für genetische Ana-

lysen geeignet sind, aber auch an Nervenzellen von Säugern, wo man mithilfe elektrischer Impulse die Massenfreesetzung von Neurotransmittervesikeln auslösen kann). Dennoch sind viele Fragen noch nicht geklärt, da es offenbar auch molekulare und zelluläre Unterschiede gibt. Neben der clathrinvermittelten Endocytose gibt es auch noch einen endocytotischen Weg, der von Clathrin unabhängig ist, über den man jedoch noch sehr wenig weiß. Beide Wege scheinen am TGN zusammenzulaufen. Diese Erkenntnis geht darauf zurück, dass sich durch Ikarugamycin (ein Hemmstoff, der spezifisch die Bildung der CCV blockiert) nur ein Teil der Endocytose hemmen lässt, während der weiter stromab wirkende Inhibitor Wortmannin eine vollständigere Hemmung hervorruft (■ Abb. 1.54a).

1.2.7.5 Alles fließt – Membranfluss und unser Bild von der Zelle

Im Gegensatz zum Membrantransport (Verlagerung von Stoffen durch Biomembranen) bedeutet Membranfluss (**vesikulärer Transport**) den Transport von ganzen Kompartimenten. Durch den Membranfluss können sich kleine Teilkompartimente von größeren abtrennen, in der Zelle mithilfe des Cytoskeletts und seiner Motorproteine gerichtet verschoben werden und schließlich mit anderen Kompartimenten verschmelzen. Diese Prozesse (**Cytosen**) laufen gleichzeitig in verschiedenen Richtungen ab (■ Abb. 1.54a, vgl. auch ■ Abb. 6.10), wobei Aufnahme und Abgabe von Vesikeln trotz der hohen Dynamik streng reguliert werden, sodass ein Fließgleichgewicht erhalten bleibt.

Neben Exo- und Endocytose, die in den vorangegangenen Abschnitten beschrieben wurden, gibt es zahlreiche Verzweigungen und Umkehrungen. Beispielsweise können die über die clathrinabhängige oder -unabhängige Endocytose aufgenommenen Moleküle wieder in den exocytotischen Weg eingeschleust werden, wodurch Rezeptoren oder Pumpen wieder zur Plasmamembran zurückgelangen können. Dies konnte etwa für den an der pflanzlichen Abwehr beteiligten Flagellinrezeptor gezeigt werden, aber auch für das am Auxintransport beteiligte Transmembranprotein PIN1. Ebenso können vom TGN Vesikel in Richtung Vakuole gelangen, wobei eine charakteristische Struktur, der multivesikuläre Körper (■ Abb. 1.54c), gebildet wird. In ihm sind kleinere Vesikel in einem größeren Kompartiment zusammengeschlossen. In der Vakuole können daher Moleküle, die über Endocytose aufgenommen wurden, mit Molekülen coexistieren, die ursprünglich vom ER stammen und auf dem exocytotischen Weg über den Golgi-Apparat zum TGN gelangt sind. Auch zwischen Dictyosom und ER können Vesikeln in zwei Richtungen wandern: Neben Vesikeln, die am ER abknospen (■ Abb. 1.54b), ein Vorgang, der durch das Pilztoxin Brefeldin A gehemmt werden kann (■ Abb. 1.54a),

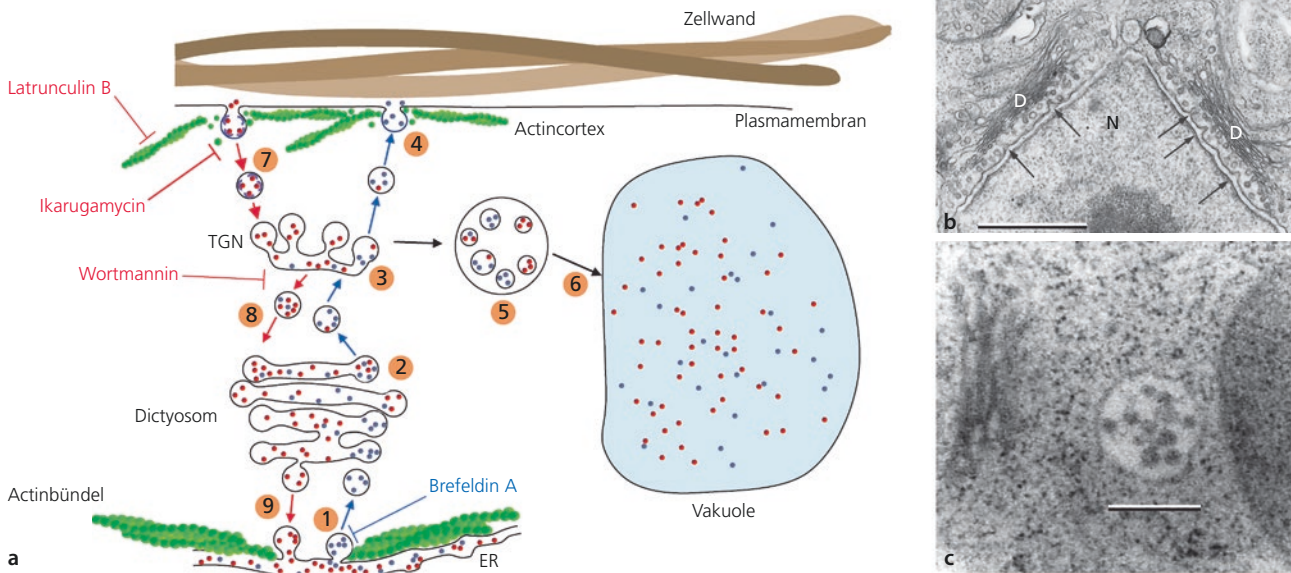


Abb. 1.54 Membranfluss, Exo- und Endocytose. **a** Exocytose: am ER synthetisierte Moleküle, am rER gebildete Proteine oder im sER akkumulierte Sekretstoffe (rote Punkte) werden in sich abknospende Transitvesikel verschoben (1) und wandern dann zum nächstgelegenen Dictyosom. Die Vesikelknospung kann durch Brefeldin A gehemmt werden. Nach Passage durch das Dictyosom werden Transitvesikel an das Trans-Golgi-Netzwerk (TGN) abgegeben (2), von wo exocytotische Vesikel (3) zur Plasmamembran wandern und dort verschmelzen (4). Alternativ können Vesikel vom TGN über den multivesikulären Körper (5) zur Vakuole gelangen und dort über die Fusion mit dem Tonoplasten (6) ihren Inhalt in die Vakuole abgeben. Endocytose: Über clathrinvermittelte oder (hier nicht gezeigt) von Clathrin unabhängige Einstülpung der Plasmamembran (7) werden Moleküle (blaue Punkte) aus der Zellumgebung in Endosomen verfrachtet, die zum TGN wandern. Von dort wandern retrograde Transitvesikel zum Dictyosom (8) und setzen ihren Inhalt an der *trans*-Seite frei. Nach Passage zur *cis*-Seite können weitere Transitvesikel zum ER wandern und mit diesem verschmelzen (9). Ursprünglich endocytotisch aufgenommene Frachten können über die Seitenroute TGN – multivesikulärer Körper – Tonoplast (3, 5, 6) in die Vakuole gelangen. Angegeben sind die Wirkorte wichtiger Hemmstoffe für die Exocytose (rot) und die Endocytose (blau). **b** Abknospung von Transitvesikeln vom rER (hier repräsentiert durch die Kernhülle der Alge *Botrydium granulatum*) zu benachbarten Dictyosomen; Pfeile: Abschnürung von Transitvesikeln (Maßstab 1 µm). **c** Multivesikulärer Körper zwischen einem Dictyosom (links) und der Zentralvakuole (rechts) aus einer Suspensionszelle von *Arabidopsis* (Maßstab 200 nm). (b EM-Aufnahme: H. Falk; c TEM-Aufnahme: L. Jiang)

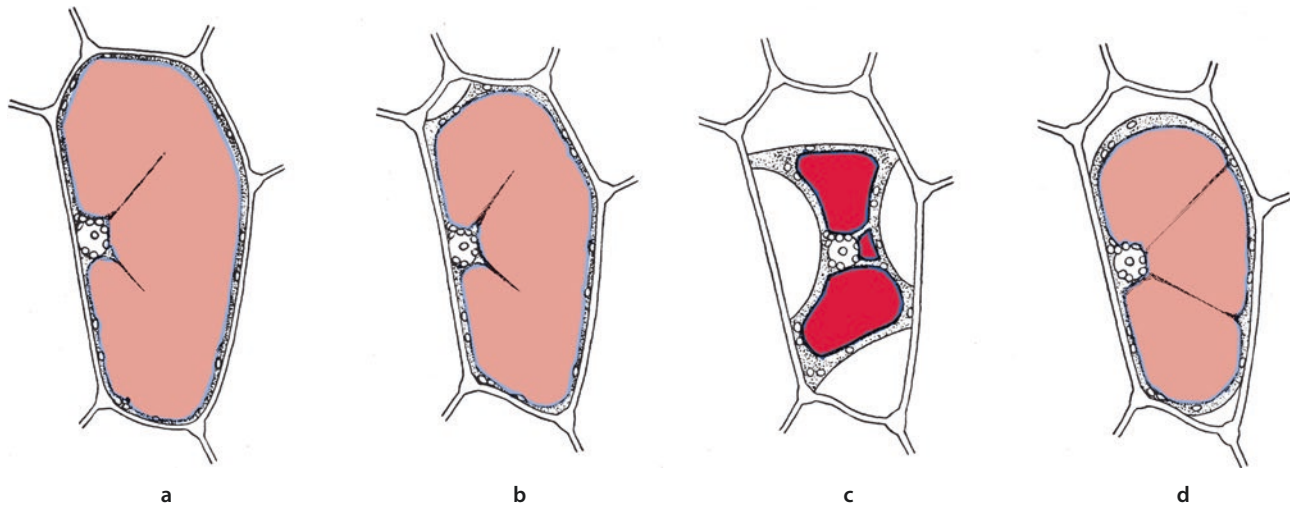
können sich Vesikel vom Dictyosom in auch Gegenrichtung bewegen und mit dem ER verschmelzen (retrograder **Transport**). Actinfilamente sind nicht nur für die Dynamik des Vesikeltransports verantwortlich, sondern erhalten auch die Struktur des ER und dessen Kontakt zu wichtigen Organellen wie Mitochondrien, Plastiden und Peroxisomen. Diese räumliche Strukturierung ist auch für die funktionelle Untergliederung vieler Stoffwechselwege von großer Bedeutung.

Die Untersuchung der subzellulären Details mithilfe der Elektronenmikroskopie führt zum Eindruck von klar umrissenen, membranumschlossenen Strukturen. Man muss sich jedoch immer im Klaren darüber sein, dass die Aufnahmen nur Schnappschüsse eines dynamischen Geschehens sind. Wie dynamisch die Membranflüsse sind, tritt zutage, wenn man einzelne Schritte der Cytosen mithilfe von spezifischen Hemmstoffen blockiert (Abb. 1.54a) – hier kommt es oft innerhalb weniger Minuten zu dramatischen Veränderungen, in denen sich einzelne Kompartimente aufblähen, verschwinden oder miteinander verschmelzen. Aus den Artefakten kann man auf die Dynamik der hier gestör-

ten Prozesse schließen – unmittelbar beobachten lassen sie sich jedoch nicht. Auch die Markierung einzelner Leitmoleküle mit GFP erlaubt zwar die Beobachtung *in vivo*, aber auch hier ändert sich die Dynamik häufig dadurch, dass das markierte Protein mithilfe der Gentechnologie überexprimiert werden muss. Aufgrund seiner hohen Dynamik gehört der Membranfluss in Pflanzenzellen daher zu den Phänomenen, an denen die zellbiologische Methodik an ihre Grenzen stößt, da die Beobachtung des Prozesses den zu beobachtenden Prozess stark verändert (► Abschn. 1.1.6).

1.2.7.6 Vakuolen und Tonoplast

Eine **Zentralvakuole**, die fast das gesamte Zellinnere ausfüllt, ist ein charakteristisches Merkmal der meisten Pflanzenzellen. Schon in primären Bildungsgeweben macht sie etwa 20 % des Zellvolumens aus und kann in differenzierten Zellen Anteile von mehr als 90 % erreichen (vgl. Abb. 1.1a, c, 1.47b–c, und 1.55). Vakuolen sind nichtplasmatische Kompartimente. Der pH-Wert ihres Inhalts liegt meistens 5,5–5,0, in einigen Fällen sogar darunter. Gegen das schwach alkalische Cytoplasma sind die



■ **Abb. 1.55** Zellen der unteren Blattepidermis von *Tradescantia spathacea*. **a** In Wasser. **b** Beginnende Plasmolyse in 0,5 M KNO_3 . **c** Vollendete Plasmolyse, Zellsaft konzentriert. **d** Deplasmolyse nach Einlegen in Wasser. (Nach W. Schumacher)

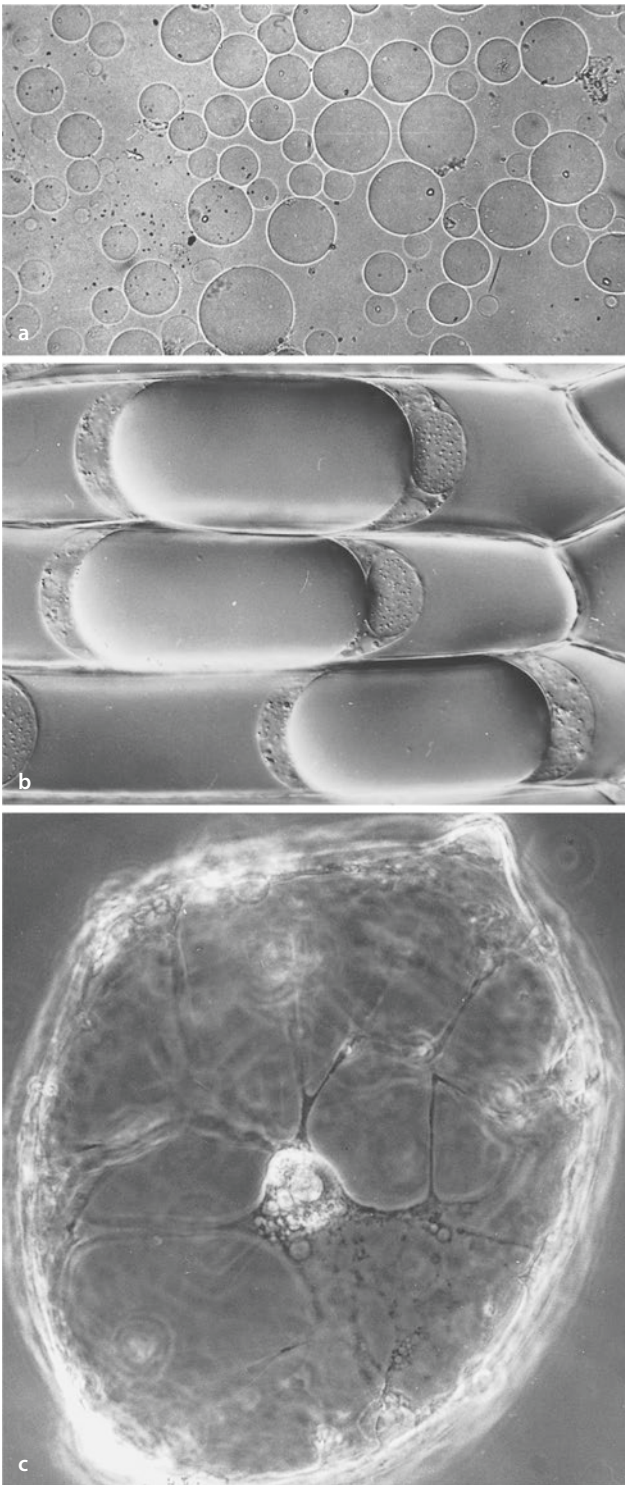
Vakuolen durch die Tonoplastenmembran abgegrenzt, die meist einfach als **Tonoplast** bezeichnet wird.

Unter Normalbedingungen ist das osmotische Potenzial des Vakuoleninhalts (Zellsaft) weit negativer als die Umgebung der Zelle, wo gewöhnlich nur wenig Ionen oder andere gelöste Stoffe zu finden sind. Das Medium ist also im Vergleich zum **Zellsaft** stark **hypotonisch**, sodass durch Plasmamembran und Tonoplast Wasser in die Vakuole eindringt und diese dadurch anschwillt (**Osmose**, ► Abschn. 14.2.2). Da sich Vakuole und Cytoplasma im osmotischen Gleichgewicht befinden, entsteht ein hydrostatischer Druck, der als **Turgordruck** auf die Zellwand wirkt und von einer entgegengerichteten Wandspannung aufgefangen wird. Da der Zellsaft als Flüssigkeit nicht komprimierbar ist, verleiht das Zusammenspiel von Turgor und dem entgegenwirkenden Wanddruck krautigen, unverholzten Pflanzenteilen Festigkeit. In Drüsengewebe von Pflanzen kommen Zellwände mit Durchbrechungen oder Lockerstellen vor, durch die mithilfe des Turgors Sekrete ausgepresst werden können. Wird nun das Wasserpotenzial des umgebenden Mediums beispielsweise durch Zugabe von Salzen oder von Zucker abgesenkt, sodass das Medium gegenüber dem dem Zellsaft **hypertonisch** ist, verliert die Vakuole so lange Wasser, bis die molare Gesamtkonzentration des Zellsafts der des Außenmediums entspricht. Durch die daraus folgende Volumenminderung der Vakuole entspannt sich die Zellwand, bis sich schließlich der Protoplast von ihr ablöst (**Plasmolyse**; ■ Abb. 1.55 und 1.56b). Vor allem an den Stellen, an denen das Cytoplasma über Plasmodesmen mit den Nachbarzellen verbunden ist, kann sich die Plasmamembran auch bei Plasmolyse nicht ablösen, sodass der zurückweichende Protoplast fadenartige Verbindungen zurücklässt, die als Hecht'sche Fäden bezeichnet werden. Auch am Ca-

spary-Streifen der Endodermis wird dies beobachtet; man vermutet, dass hier integrale Membranproteine fest in der Zellwand verankert sind (► Abschn. 2.3.2.3).

Die Plasmolyse war für die Aufklärung der Semipermeabilität von Biomembranen sehr wichtig. Das Ende des 19. Jahrhunderts von Wilhelm Pfeffer beschriebene und durch ein experimentelles Modell, das Pfeffer'sche Osmometer, biophysikalisch erklärte Phänomen, wurde um 1900 von Ernst Overton aufgegriffen, der daran erste Vorstellungen über die chemischen und molekularen Eigenschaften von Biomembranen entwickeln konnte.

Auf der beträchtlichen **Dynamik von Vakuolen** beruht unter anderem auch das Streckungswachstum der Pflanzenorgane (► Abschn. 14.2). Die **Zentralvakuole** entsteht meistens durch Fusion kleiner **Provakuolen** (engl. *prevacuolar compartments*) im Verlauf der Zelldifferenzierung, wird aber auch später über den fortwährenden sowohl über den exocytotischen also auch den endocytotischen Membranfluss weiter vergrößert (■ Abb. 1.54a). In Cambiumzellen von Holzgewächsen (► Abschn. 2.2.2) kann während des Winters der umgekehrte Vorgang beobachtet werden: Die Zentralvakuole teilt sich in zahlreiche kleinere Vakuolen auf, die im nächsten Frühjahr wieder miteinander verschmelzen. In einigen Fällen konnte eine alternative Entstehungsweise von Vakuolen nachgewiesen werden: Hier wird ein organellfreier Plasmabezirk von ER-Zisternen umstellt, die dann miteinander zu einer einzigen hohlkugeligen Zisterne fusionieren. Aus dieser Zisterne entsteht über Autolyse (Selbstverdauung) im Binnenraum eine Vakuole, bei der die Tonoplastenmembran aus der außenliegenden Membran der ER-Zisterne hervorgeht. Über Actinfilamente wird die Vakuole oft in zahlreiche Lagunen untergliedert und kann so deutlich komplexere Formen annehmen als die auf Zeichnungen oft dargestellte Kugelgestalt.

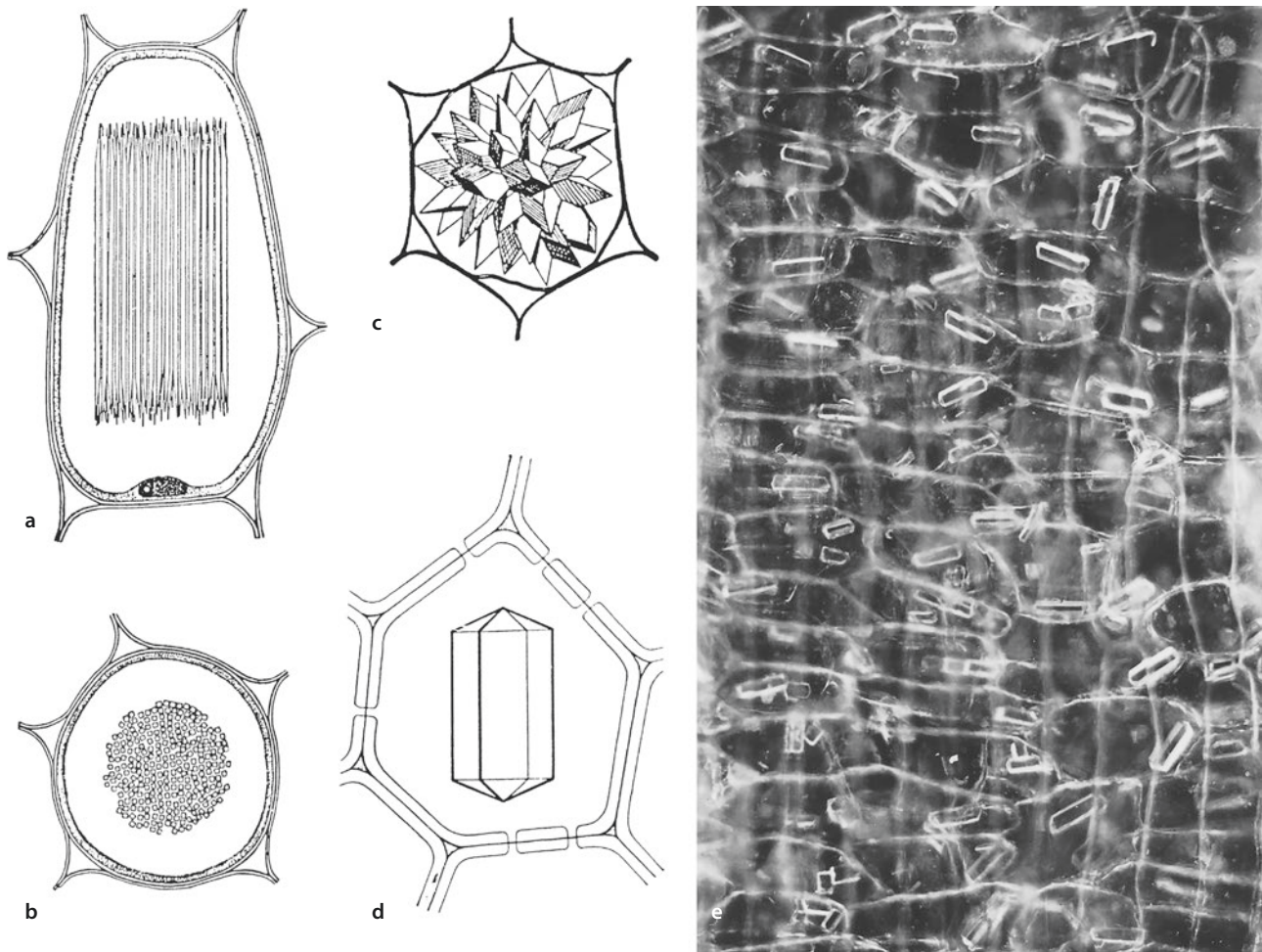


■ **Abb. 1.56** Vakuolen. **a** Isoliert aus Protoplasten vom Speicherwurzelparenchym der Zuckerrübe *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* (320 ×). **b** In plasmolysierten Zellen der Zwiebelschuppenepidermis der Küchenzwiebel *Allium cepa*; Plasmaschläuche durch das verwendete Plasmolytikum (1 M KSCN) aufgequollen (210 ×). **c** Fruchtfleischzelle der Schneebeere *Symphoricarpos albus*. Der Zellkern ist im Zentrum der großen Vakuole an Plasmafäden aufgehängt; diese sind reich an Actinfilamenten (320 ×). (a) Präparat u. Aufnahme: J. Willenbrink; b Interferenzkontrastaufnahme: H. Falk; c Phasenkontrastaufnahme: W. Url)

Vakuolen sind häufig **Speicherkompartimente**. Bei den im Zellsaft gelösten Stoffen handelt es sich in solchen Fällen neben anorganischen Ionen (K^+ , Cl^- , Na^+) vor allem um organische Metaboliten wie Zucker und organische Säuren (Äpfel-, Zitronen- und Oxalsäure, aber auch Aminosäuren). Häufig dient die Vakuole auch als Speicherort für vorübergehende Überschüsse an Metaboliten. Beispiele sind die Akkumulation von Saccharose in den Vakuolen von Zuckerrohr und Zuckerrübe oder die nächtliche Anhäufung von Malat bei CAM-Pflanzen (► Abschn. 14.4.9). In den Vakuolen vieler Zellen finden sich auch unterschiedlich geformte Kristalle aus unlöslichem Calciumoxalat (■ Abb. 1.57), die überschüssiges Calcium auffangen.

Viele Metaboliten aus dem **Sekundärstoffwechsel der Pflanzen** (► Abschn. 14.14) werden nach ihrer Synthese im Cytoplasma (oft in Form von Glykosiden) aktiv in die Vakuole transportiert und dort aufkonzentriert. Ein beträchtlicher Teil dieser als **Pflanzen- oder Naturstoffe** zusammengefassten Verbindungen hat pharmazeutische Bedeutung und/oder ermöglicht die Verwendung der betreffenden Pflanzen für die Gewinnung von Aroma-, Genuss- oder Arzneimitteln. Für die menschliche Ernährung besonders wichtig ist die Speicherung von Proteinen in den Samen der Hülsenfrüchtler (wie Erbse, Bohne, Linse oder Soja) oder Getreidekörnern. Samen sind wegen ihres geringen Wassergehalts und ihrer Haltbarkeit für Transport und Lagerung besonders geeignet. Bei der Samenreife werden in peripheren Zellen von Getreidekörnern und in den Keimblättern von Hülsenfrüchtlern Proteinspeichervakuolen gebildet, die als **Aleuronkörner** bezeichnet werden (griech. *áleuron*, Weizenmehl, ■ Abb. 1.58). Speicherproteine werden am rER synthetisiert. Die Aleuronkörner entstehen entweder direkt aus aufgeblähten rER-Zisternen oder durch die Fusion von Golgi-Vesikeln (■ Abb. 1.59). Speicherproteine bilden häufig große multimere Komplexe (z. B. bei Leguminosen trimere Viceline mit 150–210 kDa, hexameres Legumin mit >300 kDa). Bei der Samenkeimung werden diese Proteine rasch hydrolysiert und die anfallenden Aminosäuren in den wachsenden Embryo transferiert. Die Aleuronvakuolen fungieren hier also als Kompartimente des intrazellulären Stoffabbaus.

In vielen Fällen hat der Zellsaft lytische Eigenschaften und enthält saure Phosphatasen sowie andere lytische Enzyme wie Proteinasen, RNasen, Amylase und Glykosidasen. Alle vorhin besprochenen Leistungen der Vakuole beruhen auf der Barrierefunktion des Tonoplasten bzw. auf spezifischen Transportvorgängen durch diese Membran. Mithilfe isolierter Vakuolen (■ Abb. 1.56a) lässt sich das gesamte Spektrum von Mechanismen der Stoffverschiebung durch Biomembranen demonstrieren und untersuchen. Die Markierung intrinsischer Tonoplastenproteine durch verschiedene



■ **Abb. 1.57** Verschiedene Formen von Calciumoxalatkristallen. **a, b** Raphiden (Bündel von Kristallnadeln, Monohydrat) bei *Impatiens*, längs und quer (200 ×). **c** Druse, Monohydrat (*Opuntia*, 200 ×). **d** Tetragonaler Solitärkristall in einer Blattepidermiszelle von *Vanilla* (Dihydrat, 150 ×). **e** Oxalatstyloide in eingetrockneten, braunen Hüllschuppen der Küchenzwiebel *Allium cepa* (Dihydrat; Dunkelfeldaufnahme, 65 ×). (a–d nach D. von Denffer)

Antikörper weist darauf hin, dass in ein und derselben Zelle oft unterschiedliche vakuoläre Kompartimente vorliegen.

1.2.8 Zellwand – Werkzeug der Morphogenese

Die Wand der Pflanzenzelle als formgebendes **Exoskelett** bietet dem Turgor Widerstand, der den Protoplasten mit etwa 5–10 bar (0,5–1 MPa) gegen die Zellwand drückt, und hält so die vakuolenhaltigen Zellen in einem mechanisch-osmotischen Gleichgewicht. Die Wand ist ein Abbauprodukt der lebenden Zellen, befindet sich also außerhalb der Plasmamembran. Dennoch ist sie ein wichtiger funktioneller Bestandteil von Pflanzenzellen. Die Zellwand ist aus vielen verschiedenen Polysaccharide und Proteinen nach Art eines Verbundmaterials zusammengesetzt: Faserige Anteile, die Zugkräfte

auffangen können, sind in eine amorphe **Grundsubstanz (Matrix)** eingebettet, wodurch eine hohe Dehnbarkeit gewährleistet wird. Zellwände von Pflanzenzellen bieten also eine sehr hohe Festigkeit bei geringem Gewicht. In pflanzlichen Geweben stehen die einzelnen Zellen über zahlreiche Plasmodesmen miteinander in Verbindung, die gelegentlich auch lichtmikroskopisch sichtbar sind.

Die Zellwand gehört zu den besonders charakteristischen Komponenten der Pflanzenzelle. Ihre Entstehung beginnt nach Abschluss der Mitose, wenn eine erste Wandlage, die Zellplatte, sezerniert wird, die dann von innen nach außen größer wird, bis sie die beiden Tochterzellen voneinander trennt. Da Pflanzenzellen von einer Wand umschlossen sind, können sie sich weder fortbewegen noch größere Partikel aufnehmen (Phagotrophie). Im Inneren bleiben sie jedoch sehr dynamisch, was bei vielen Zellen als Plasmaströmung auch lichtmikroskopisch in Erscheinung tritt. Einmal gebildete Pflanzenzellen werden nur selten wieder aufgelöst – Zellwanderungen, wie

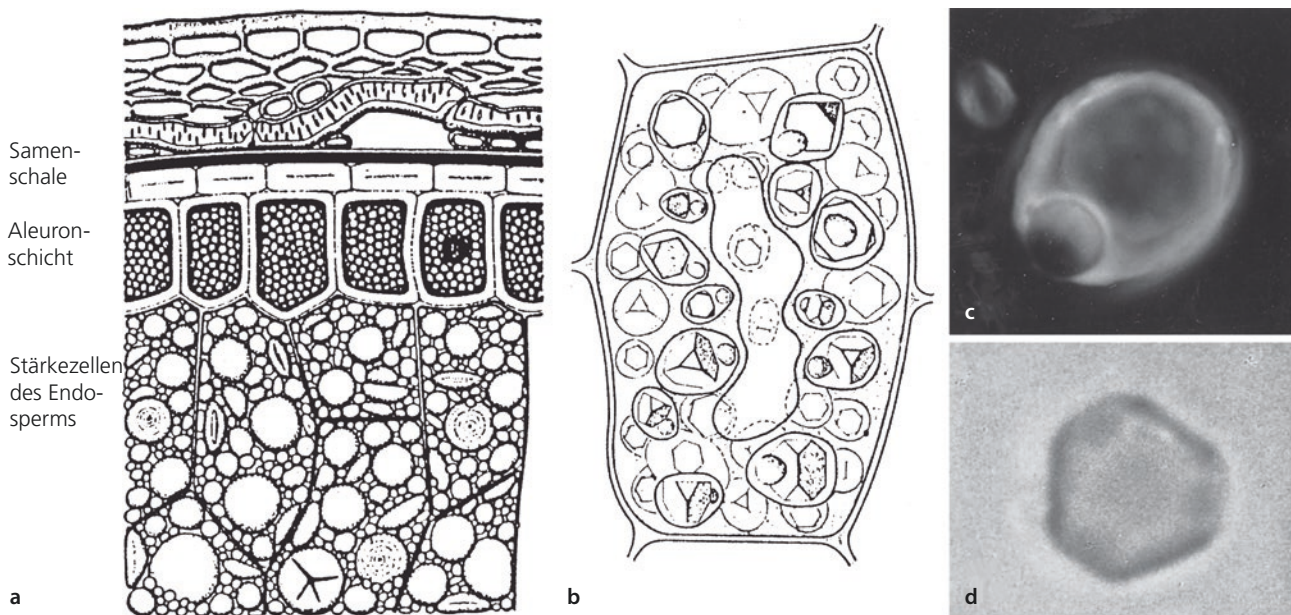


Abb. 1.58 Aleuron. **a** Querschnitt durch Außenschichten eines Roggenkorns (135 ×). Außen sind noch Reste der Fruchtwand erkennbar (die Samenschale ist als dicke schwarze Linie dargestellt). Die getüpfelten Zellen sind Querzellen, die Kringel darunter Längszellen. Zwischen Samenschale und Aleuronschicht sind noch Nucellusreste erkennbar. **b–d** Endosperm von *Ricinus communis*. **b** Zelle mit zentraler Ölvakuole (Ricinusöl!) und zahlreichen Aleuronkörnern, jedes mit tetraedrischem Proteinkristalloid und amorphem Globoid (400 ×). **c, d** Isoliertes Aleuronkorn bzw. Kristalloid (670 ×). (a nach Gassner; b nach D. von Denffer)

sie für die Entwicklung tierischer Vielzeller typisch sind, werden bei Pflanzen also nicht beobachtet. Bei ausdauernden Holzgewächsen bestehen erhebliche Teile des Pflanzenkörpers aus den Zellwänden abgestorbener Gewebe (Holz, Korkgewebe des Phelloms, eine Teilschicht des Periderms), in denen jedoch noch oft lebende Zellen (etwa Holzparenchymzellen) eingelagert sind.

1.2.8.1 Entwicklung und Differenzierung der Zellwand

Die Entwicklung der Pflanzenzellwand beginnt während der Zellteilung mit der Bildung der **Zellplatte** durch die Fusion von Golgi-Vesikeln im Phragmoplasten (► Abschn. 1.2.4.6). Mitten im Zellinneren entsteht eine neue Membran, an die sich Pektine mit einem geringen Proteinanteil anlagern. Die Zellplatte ist also amorph organisiert. Sie bleibt weiterhin als **Mittellamelle** erhalten, sodass im Gewebeverbund die Wand zwischen benachbarten Zellen dreischichtig erscheint und zeichnerisch so traditionell auch dargestellt wird (Dreistrichtechnik). Da die Mittellamelle kein Fibrillengerüst enthält, kann sie besonders leicht abgebaut werden. Das Gewebe zerfällt dann in seine einzelnen Zellen, ein Vorgang, der als **Mazeration** (von lat. *macerare*, mürbe machen) bezeichnet wird und z. B. beim Reifen von Früchten zu beobachten ist.

Unmittelbar nach der Zellteilung beginnen die Tochterzellen damit, lamellenartig Wandmaterial abzuscheiden, das nun auch Gerüstfibrillen enthält. Dadurch entsteht die zunächst verformbare (plastische) **Primärwand**.

Sie macht das langsame embryonale und das raschere postembryonale Wachstum der Zelle mit, wobei sie durch den Turgor gedehnt wird. Gleichzeitig wird sie dicker, die Trockenmasse nimmt also zu. Aus biomechanischen Messungen weiß man, dass während des Zellwachstums nicht etwa der Turgor ansteigt, sondern vielmehr die Plastizität der Primärwand durch Anlagerung von neuem Wandmaterial, vor allem von Grundsubstanz. Allerdings steigt auch der Anteil an Gerüstfibrillen, bis diese etwa ein Viertel der Trockenmasse der Zellwand ausmachen. Die Gerüstfibrillen (sie bestehen bei vielen Pflanzen aus Cellulose) sind flexibel, aber sehr reißfest. Die Zelle schnürt sich letztlich selbst in ein Korsett ein, das zwar noch elastisch, aber nicht mehr plastisch dehnbar ist. Damit ist ein stabiler Endzustand der primären Zellwand erreicht.

Bei vielzelligen Pflanzen werden später von innen noch weitere Wandschichten aufgelagert (**Apposition**). Gleichzeitig kann die Primärwand nachträglich chemisch verändert werden. Man spricht in solchen Fällen von einer **sekundären Zellwand**, die zur Verfestigung und der Abdichtung (Isolierung) beiträgt. „Mechanische“ Sekundärwände (► Abschn. 1.2.8.4) sind für Festigungsgewebe, isolierende für Abschlussgewebe charakteristisch (► Abschn. 1.2.8.6).

1.2.8.2 Primäre Zellwand

In Primärwänden überwiegen die verschiedenen Komponenten der **Zellwandmatrix** – Pektine, Hemicellulosen und Wandproteine. Die Matrixsubstanzen werden

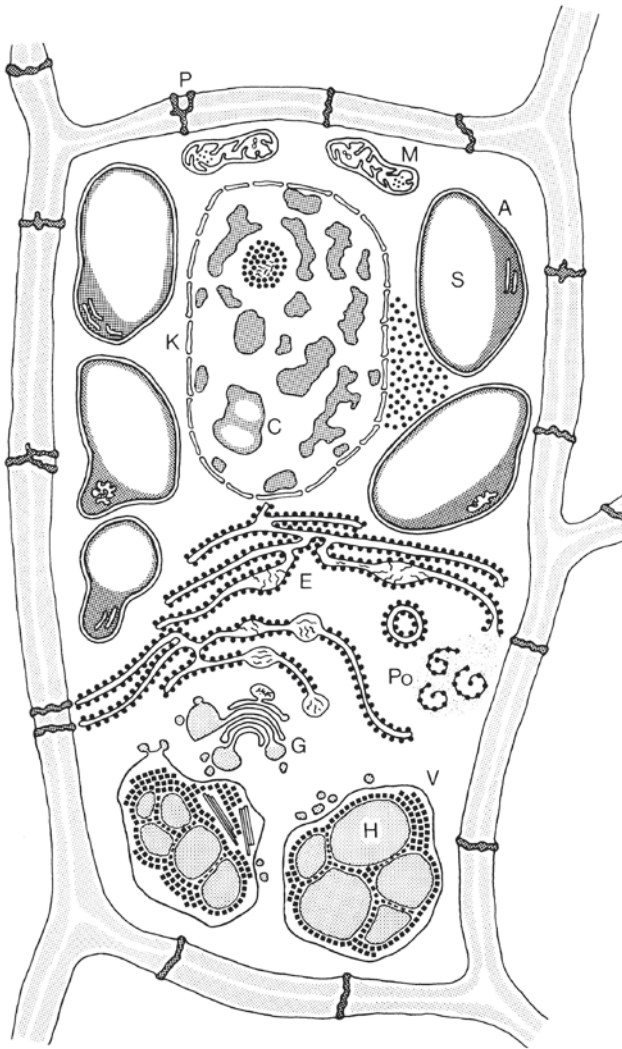


Abb. 1.59 Bildung und Lagerung von Speicherproteinen bei der Gerste (*Hordeum vulgare*). Zellkern mit Chromatin und Nucleolus, Amyloplast mit Stärke, rER mit Polyribosomen, Dictyosom mit abgegliederten Proteinvesikeln, Proteinvakuoel mit amorphem Hordein und granulärem Globulin. – A Amyloplast, C Chromatin, E rER, G Dictyosom, H Hordein, K Zellkern, M Mitochondrien, P Plasmodesmos, Po Polyribosomen, S Stärke, V Proteinvakuoel. (Nach D. von Wettstein)

über Golgi-Vesikel sezerniert. Ihre mechanische Festigkeit ist gering; es handelt sich bei der Zellwandmatrix um eine leicht quellbare, isotrope Gallerte von komplexer Zusammensetzung.

Pektine Pektine sind chemisch heterogen und werden zunächst als stark negativ geladene, saure Polysaccharide wie Galacturon- und Rhamnogalacturonsäuren gebildet (Protopektin), die später mit Methanol verestert werden (Pektin). Diese Veresterung wird enzymatisch gesteuert und ist einer der Vorgänge, die es der Pflanzenzelle erlauben, die Dehnbarkeit der Zellwand zu kontrollieren. Inzwischen werden auch verschiedene nur schwach saure,

aber ebenfalls stark hydrophile und vergleichsweise kurzkettige Polysaccharide – Arabinane, Galactane, Arabinogalactane – den Pektinen zugeordnet. Insgesamt zeichnen sich Pektine durch ihre hohe Wasserlöslichkeit und ein extremes Quellungsvermögen aus. Vor allem in der Mittellamelle sind die einzelnen Moleküle über zweiwertige Kationen (Ca^{2+} , Mg^{2+}) miteinander vernetzt. Werden diese Ionen entfernt, z. B. durch Oxalat oder Chelatoren wie EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure), gehen die Pektine in Lösung. Sie machen die Zellwände zu wirksamen Kationenaustauschern. In manchen Pflanzenorganen (besonders häufig z. B. in Samenschalen) kommt es zu einer Massenproduktion von Pektinstoffen, die als Pflanzenschleime bzw. Gummien (z. B. Quittenschleim; Gummiarabikum) bekannt sind.

Hemicellulosen Hemicellulosen sind weniger hydrophile und im Allgemeinen größere Moleküle. Um sie in Lösung zu bringen, ist die Anwendung von Laugen erforderlich. Hauptvertreter der Hemicellulosen sind die **Glucane** mit $\beta(1\rightarrow3)$ - und $\beta(1\rightarrow4)$ -Verknüpfungen sowie die **Xyloglucane** (bei Gräsern ersetzt durch Xylane mit anhängenden Arabinose- und anderen Resten). Xyloglucane bestehen aus $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpften Glucoseeinheiten, von denen die meisten $\alpha(1\rightarrow6)$ -gebundene Xyloseketten tragen. Hemicellulosen hüllen Cellulosefibrillen ein und verleihen den Zellwänden dadurch Festigkeit. In „mechanischen“ Sekundärwänden ist ihr Mengenanteil daher besonders hoch.

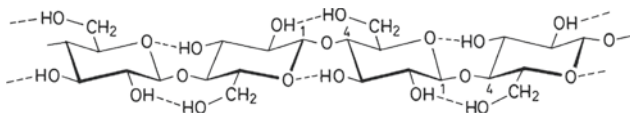
Zellwandproteine Zellwandproteine sind zumeist Glykoproteine mit einem ungewöhnlich hohen Anteil an hydroxyliertem Prolin. Fast alle Hydroxyprolinreste sind glykosyliert, sie tragen Tri-, vor allem Tetra-L-Arabinosidketten. Bei diesen knapp 90 kDa großen **hydroxyprolinreichen Glykoproteinen (HRGPs)** trägt der Zuckeranteil fast doppelt so viel zur Molekülmasse bei wie der Proteinanteil. Es entsteht eine steife Stabstruktur von 80 nm Länge, die von einer Arabinosidhülle umgeben ist und sich leicht vernetzt. Man nimmt daher an, dass die Funktion der HRGPs in der Verfestigung der Zellwandmatrix besteht. Darauf deutet auch hin, dass sie bei Stress, Verwundung oder Parasitenbefall vermehrt gebildet werden. Es gibt allerdings, insbesondere unter den Monokotyledonen, auch Pflanzen, deren Zellwände nur wenig Strukturprotein enthalten. In „mechanischen“ Sekundärwänden fehlen sie meist ganz.

Bezüglich der Aminosäuresequenz der HRGPs gibt es auffällige Entsprechungen zu jener von Kollagenen, den wichtigsten Strukturproteinen der interzellulären Matrix bei Tier und Mensch. Das lässt auf einen gemeinsamen phylogenetischen Ursprung der Gene für diese hydroxyprolinreichen, extrazellulären Strukturproteine schließen. Bei bestimmten Algen (z. B. *Chlamydomonas*) besteht die Zellwand fast zur Gänze aus einer

kristallinen HRGP-Schicht. Zu den HRGPs zählt das am weitesten verbreitete Strukturprotein primärer Zellwände, **Extensin**. Eine wichtige Untergruppe der HPRGs sind die **Arabinogalactanproteine (AGPs)**. Bei diesen Proteoglykanen liegt der Proteinanteil meist unter 10 % der Gesamtmasse. Neben den HRGPs treten häufig noch zwei weitere Klassen von Zellwandglykoproteinen auf: prolinreiche (PRPs) und glycinreiche (GRPs).

Warum die Polysaccharide der Matrix so heterogen sind, war lange unklar, gerade auch bei den Komponenten, die zur Festigkeit der Wand nur wenig beitragen. Inzwischen zeigt sich immer mehr, dass diese zuckerhaltigen Moleküle etwas mit Kommunikation zwischen Zellen zu tun haben, ähnlich wie die Glykokalyx von Säugerzellen. Solche Signalfunktionen konnten für die Erkennung von Gameten, für die Unterdrückung der Selbstbefruchtung (**Selbstinkompatibilität**) oder für die Auslösung einer Immunreaktion gegen Pilze nachgewiesen werden. Lösen Enzyme des Pilzes die Zellwand auf, können dadurch Oligosaccharidfragmente freigesetzt werden, was es der Pflanzenzelle erlaubt, die Pathogenattacke zu erkennen und darauf mit der Bildung antibiotischer Abwehrstoffe (**Phytoalexine**) zu reagieren (► Abschn. 16.3.4).

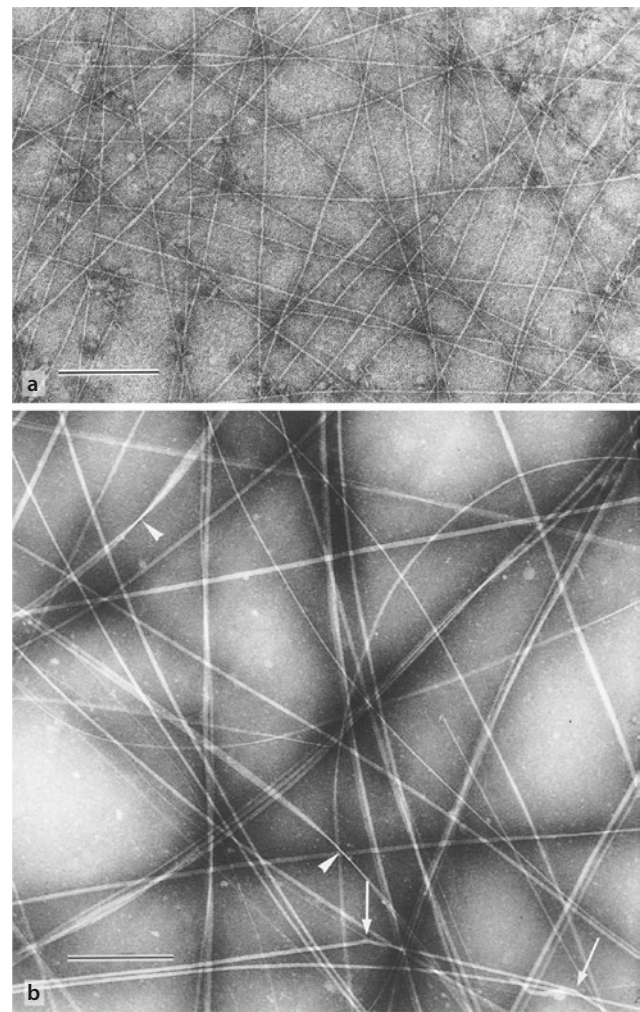
Das **Zellwandgerüst** besteht bei den Landpflanzen in der Regel aus **Cellulose**, wobei mehrere Tausend Glucoseeinheiten β -glykosidisch verknüpft sind (■ Abb. 1.60). Dadurch ist jeder zweite Glucoserest um 180° gedreht, sodass eine gerade gestreckte Kette entsteht, die natürlich sehr gut geeignet ist, Zugkräfte aufzunehmen. Im Gegensatz dazu sind die α -D-Glucanketten der Speicherpolysaccharide Stärke und Glykogen schraubig gewunden – diese Polymere würden sich daher nicht als Baustoffe für die Zellwand eignen. Es können 2000–10.000 Glucosereste verknüpft sein, sodass bis über $8 \mu\text{m}$ lange Cellulosebänder entstehen. Aufgrund der zahlreichen Hydroxylgruppen bilden sich zwischen benachbarten Ketten leicht Wasserstoffbrücken aus, sodass zunächst Elementarfibrillen (Durchmesser um 3 nm) entstehen, die – besonders in Sekundärwänden – zu den wesentlich dickeren Mikrofibrillen mit $5\text{--}30 \text{ nm}$ Durchmesser zusammengeschlossen sind (■ Abb. 1.61). Diese ebenfalls bandförmigen Gerüstfibrillen können kristallgitterartig geordnet sein, sodass sie nur noch begrenzt flexibel sind und bei zu starker Biegung wie Kristallnadeln abknicken. Für ihre Funktion ist wichtig, dass Gerüstfibrillen sehr reißfest sind. Ein 1 mm dicker,



■ **Abb. 1.60** Cellulose. Ausschnitt aus der β -1,4-Glucankette; zwei Cellobioseeinheiten (= vier Glucosylreste). Wasserstoffbrücken seitlich der Hauptvalenzkette gestrichelt

kompakter Cellulosefaden könnte 60 kg tragen (d. h. eine Zugspannung von 600 N aushalten); das liegt sogar etwas höher als die Zugfestigkeit von Stahl!

Da die Cellulose aus polaren Bausteinen besteht und in lang gestreckten Faserbündeln angeordnet ist, ergibt sich im polarisierten Licht eine auffällige Doppelbrechung cellulosereicher Wandschichten. Dadurch lässt sich mithilfe eines Interferenzplättchens (Gipsplättchen: rot) einen Farbumschlag erzeugen, der es erlaubt, die Vorzugsrichtung von Cellulose in einer Zellwand zu bestimmen. Außerdem liefert Cellulose aufgrund der Kristallinität der Fibrillen in Röntgendiagrammen ausgeprägte Beugungsreflexe. Beide Phänomene werden an der isotrop-amorphen Zellwandmatrix nicht beobachtet.



■ **Abb. 1.61** Isolierte Cellulosefibrillen im Negativkontrast. **a** Elementarfibrillen aus Quittenschleim (Maßstab $0,2 \mu\text{m}$). **b** Mikrofibrillen der siphonalen Grünalge *Valonia*; die unterschiedlichen Querdurchmesser erklären sich zum Teil aus der Bandform dieser derben Gerüstfibrillen (Pfeilköpfe); bei zu starker Verbiegung knicken sie ab wie Kristallnadeln (Pfeile; Maßstab $0,4 \mu\text{m}$). (EM-Aufnahmen: W.W. Franke)

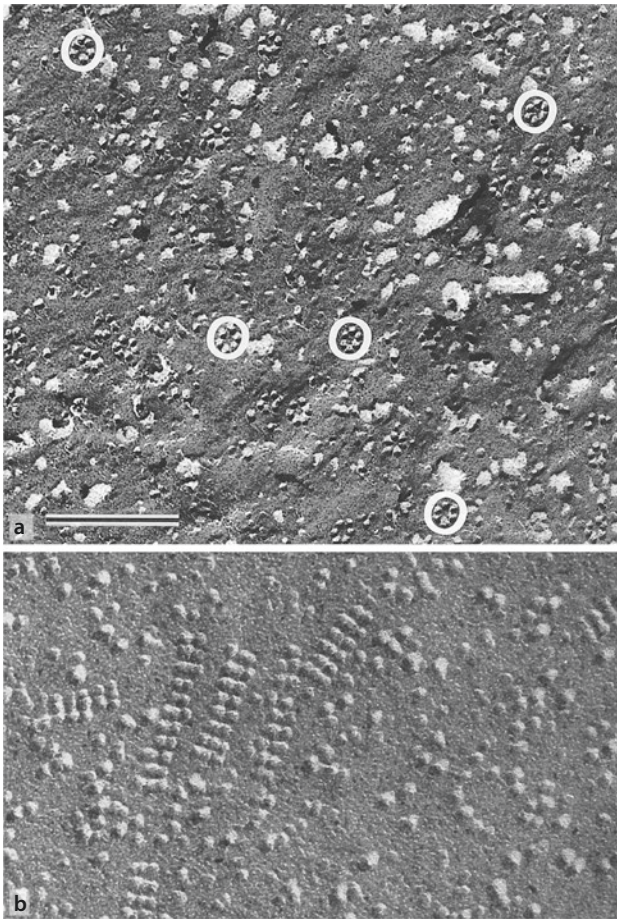


Abb. 1.62 Cellulose-Synthase-Komplexe. **a** In der Zellmembran des Laubmooses *Funaria hygrometrica* (Protonema). Von den 20 im Bild sichtbaren Rosetten sind fünf markiert. **b** Lineare Komplexe bei der Rotalge *Pyropia yezoensis*. (Maßstäbe 0,1 μm .) (Gefrierbruchpräparate und EM-Aufnahmen: A U. Rudolph; B I. Tsekos; H-D. Reiss)

Cellulose wird an rosettenförmigen **Cellulose-Synthase-Komplexen**, die in die Plasmamembran eingelagert sind (Abb. 1.62), synthetisiert. Diese sind gewöhnlich rosettenförmig organisiert, nur bei manchen Algen kommen lineare Komplexe vor. Jeder dieser Komplexe bildet mehrere Celluloseketten, die unmittelbar nach ihrer Synthese zu einer Elementarfibrille kristallisieren. Dickere Mikrofibrillen entstehen durch die konzertierte Aktivität mehrerer benachbarter Synthasekomplexe.

Unter natürlichen Bedingungen sind Synthese und Fibrillenbildung streng gekoppelt. Sie können aber durch Farbstoffe, die besonders fest an Cellulosemolekülen binden (Kongorot oder Calcofluor-Weiß), voneinander getrennt werden. Hier wird die Kristallisation verhindert, während die Cellulose weiter voranschreitet, ohne dass sich Fibrillen bilden können. Cellulose kommt fast nur bei Pflanzen vor, neben einigen Bakterien können die Tunicaten (Manteltiere) als einzige Tiergruppe Mikrofibrillen aus Cellulose (Tunicin) bilden; bei ihnen befinden sich in den äußeren Zellmembranen ihrer Epidermiszellen lineare Cellulose-Synthase-Komplexe.

Die Cellulosemoleküle nativer Elementar- und Mikrofibrillen entstehen gleichzeitig und sind daher parallel ausgerichtet (die C1-Atome der einzelnen Glucoseeinheiten

entlang der Molekülachse weisen alle in dieselbe Richtung). Die parallele Orientierung dieser Cellulose I entspricht aber nicht dem energetisch günstigsten Zustand. Bei der technisch vielfach verwendeten Ausfällung von Cellulose aus Lösungen, z. B. bei der Herstellung von Kupferseide aus Celluloselösungen in ammoniakalischem Kupfer(II)-hydroxid (Schweizers Reagenz), bilden sich Fibrillen, deren Moleküle antiparallel liegen; diese Cellulose II ist stabiler, da sie energieärmer ist als die native Cellulose I.

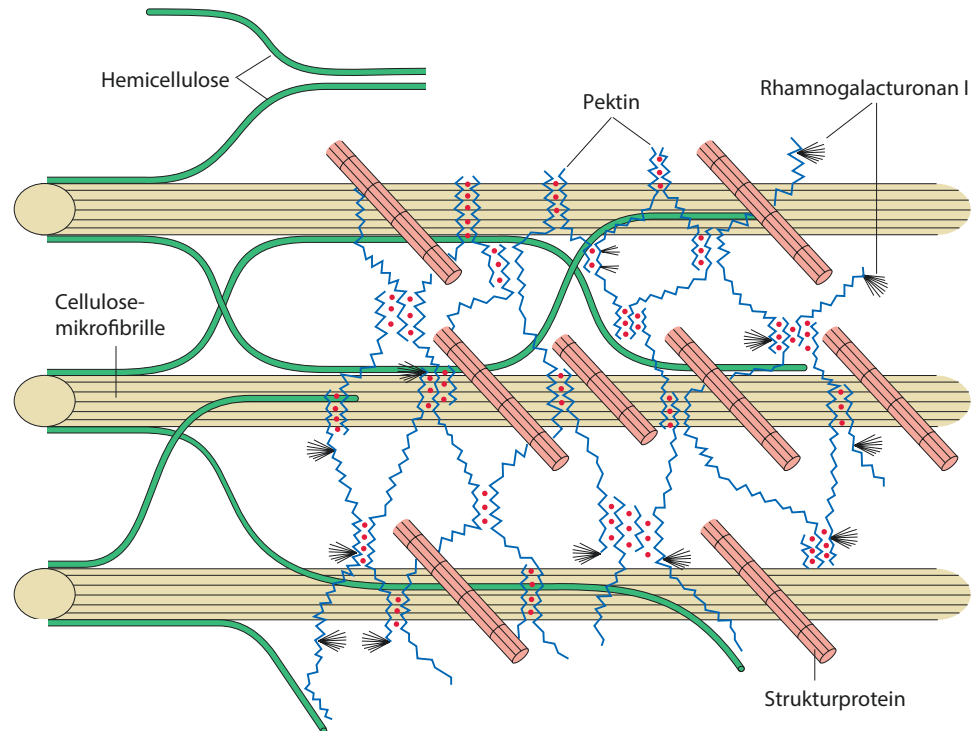
Cellulose ist das häufigste organische Makromolekül in der Biosphäre, jährlich werden über 10^{11} t Cellulose synthetisiert (zum Vergleich, die Gesamtmenge des als Kohlendioxid vorliegenden Kohlenstoffs in der Atmosphäre liegt mit knapp 10^{12} t nur um den Faktor zehn darüber). Die wirtschaftliche Bedeutung der Cellulose und ihrer zahlreichen Derivate ist enorm, insbesondere in der Textilindustrie, vor allem aber als Rohstoff für Biokraftstoffe (engl. *biofuels*). Reine Cellulose wird vor allem aus den Samenhaaren der Baumwolle gewonnen, mit besonderen Aufschlussverfahren aber auch aus Holz. Für den Menschen ist Cellulose ohne Nährwert, da ihm Enzyme fehlen, die β -glykosidische Bindungen spalten können. Cellulosereiche Nahrung gilt daher als sehr ballaststoffreich. Pflanzenfresser, besonders die Wiederkäuer, können Cellulose nur nutzen, weil sie die Hilfe endosymbiotischer Bakterien und Ciliaten in Anspruch nehmen, die in ihrem Magen-Darm-Trakt leben und Cellulasen produzieren.

Vor allem im Tierreich (Arthropoden), aber auch bei vielen Pilzen und manchen Algen tritt als extrazelluläre Gerüstsubstanz **Chitin** auf, ein lineares Polymer aus N-Acetylglucosamin. Chitinfibrillen sind trotz der anderen Monomere ähnlich gebaut wie die der Cellulose. Ihre Festigkeit ist wegen der intensiveren Verzahnung benachbarter Kettenmoleküle noch größer als bei Cellulose. Da Pflanzen autotroph sind und bioverfügbarer (reduzierter) Stickstoff daher nur begrenzt zur Verfügung steht, ist Acetylglucosamin als Baustein für die Zellwand nicht geeignet. Arthropoden und Pilze nehmen dagegen Proteine anderer Organismen mit der Nahrung auf, sodass die Nutzung aminierter Zucker als Gerüstbaustein keine Limitierung darstellt.

Bei den durch polyenergetische Riesenzellen ausgezeichneten siphonalen Meeresalgen wird die Gerüstfunktion nicht von Cellulose, sondern von Xylanen oder Mannanen ausgeübt. Diese Polysaccharide vermögen kristalline Aggregate zu bilden, aber die Formierung von Fibrillen ist bei ihnen nicht so ausgeprägt wie bei Cellulose oder Chitin.

Die chemische Struktur der Primärwand ist komplex (Abb. 1.63). Die Cellulosefibrillen werden von besonders widerstandsfähigen Xyloglucanen vernetzt. In den Maschen dieses Netzwerks bilden Pektinstoffe ein zweites, die Matrix verdichtendes Maschenwerk. Während die mittlere Maschenweite (Porosität) der nativen Primärwand bei 5–10 nm liegt (Maximalwerte 20 nm; globuläre Proteine bis etwa 50 kDa können also passieren), wird die Wand nach Extraktion der Pektine für Partikel bis 40 nm Durchmesser durchlässig.

■ **Abb. 1.63** Vereinfachtes Schema der molekularen Struktur der primären Zellwand. Von den vielen Zellwandkomponenten sind hier nur Cellulosemikrofibrillen, die an ihnen über Wasserstoffbrücken befestigten und sie vernetzenden Xyloglucanketten (Hemicellulose, grün), Pektine (vernetzt über Ca^{2+} -Ionen, rot) und Zellwandproteine eingezeichnet. (C. Brett und K. Waldron, aus Taiz und Zeiger, verändert)



Diese komplexe Verbundstruktur hat große Auswirkungen auf die mechanischen Eigenschaften der Zellwand. Die überwiegend kristallinen Cellulose- oder Chitinofibrillen vermögen praktisch kein Wasser aufzunehmen. Dagegen können die amorphen, hydrophilen Matrixsubstanzen je nach Verfügbarkeit von Wasser aufquellen oder eintrocknen. Ohne Wasser schrumpfen sie zu dichten, hornigen Massen zusammen, mit Wasser bilden sie puddingartige Gallerte, deren Trockenmasse oft nicht einmal 3 % der Frischmasse erreicht (das macht man sich bekanntlich bei der Herstellung von Nährböden aus Agar oder Alginat sowie für Marmeladen zunutze). Da die Länge von Gerüstfibrillen bei quellfähiger Matrix unveränderlich ist, können Pflanzen die Unterschiede in der Quellfähigkeit nutzen, um **hygroskopische Bewegungen** hervorzubringen. Diese treten vor allem dann auf, wenn sich Gerüst und Matrix nicht gegenseitig durchdringen, sondern geschichtet sind. Besonders eindrücklich sind die Bewegungen der Hapteren der Schachtelhalmsporen (■ Abb. 19.121h, j). Hier ist auf einer inneren Schicht aus Cellulose eine zweite aus quellfähigem Arabinoglucan aufgelagert, sodass es beim Trocknen oder Befeuchten zu sehr markanten hygroskopischen Bewegungen kommt.

Beim **Flächenwachstum** der primären Zellwand werden die sukzessive abgeschiedenen Wandlamellen nach und nach immer stärker plastisch gedehnt. Zugleich werden von der Zelle laufend neue Lamellen aufgelagert, wodurch jede einzelne Lamelle innerhalb der Zellwand immer weiter nach außen gedrängt und durch Dehnung immer dünner wird; das Maschenwerk des Wandgerüsts wird immer lockerer. Die **Plastizität** von Zellwänden wird von Wuchsstoffen (Hormonen) gesteuert (► Abschn. 12.3.4). Sie ist für deren Flächenwachstum entscheidend und beruht letztlich auf einer Verminderung der Quervernetzung der Gerüstfibrillen, sodass diese aneinander vorbeigleiten und auseinanderweichen können. Dies kann sehr eindrücklich gezeigt

werden, indem man die Zellwand künstlich ansäuert und so die Wasserstoffbrücken zwischen den Celluloseketten schwächt. Im Ergebnis wird die Zellwand dehnbarer und die Zelle wächst. Ob dieses sogenannte Säurewachstum für die wachstumsfördernde Rolle des Pflanzenhormons Auxin maßgeblich ist, wird kontrovers diskutiert. Unbezweifel ist jedoch, dass einige parasitische Pilze diesen Kniff anwenden, um die pflanzliche Zellwand zu lockern und so besser eindringen zu können.

Primäre Zellwände enthalten verschiedene Enzyme, die solche Auflockerungen bewirken können. Glucanasen können Matrixglucane abbauen, während **Expansine** Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Cellulosefibrillen und Xyloglucanen auflösen. Andere Enzyme können wiederum Xyloglucanketten durch Einbau neuer Monomere verlängern. Verschiedene Komponenten der Zellwand sind über integrale Proteine der Plasmamembran mit dem Cytoskelett verbunden. Diese (noch nicht identifizierten) Transmembranproteine binden auf der Außenseite an Proteine der extrazellulären Matrix, die das Heptapeptidmotiv -YGRGDSP- tragen (nach dem zentralen Triplett -Arg-Gly-Asn als RGD bezeichnet). Wird dieses Peptid im Überschuss angeboten, wird diese Verbindung gespalten und das Cytoskelett löst sich von der Membran. Die betroffenen Zellen verlieren dann die Fähigkeit zu regelmäßigen Teilungen und zur korrekten Einordnung in Gewebe.

Die endgültige Form von Pflanzenzellen hängt davon ab, ob die primäre Zellwand überall gleichmäßig (**diffuses Wachstum**) oder nur an begrenzten Orten

wächst (**Spitzenwachstum**). Beim Spitzenwachstum werden mit Matrixmaterial beladene Golgi-Vesikel abhängig vom Cytoskelett gezielt an einem Punkt eingebaut, sodass die Zelle stark polarisiert ist und sich röhrenartig verlängert. Im Gegensatz zur üblichen **Apposition** von Zellwandmaterial erfolgt hier also eine **Intussuszeption**. Während Spitzenwachstum bei Pilzen den üblichen Wachstumsmodus darstellt, wachsen Pflanzenzellen im Gewebeverband zumeist diffusiv. Spitzenwachstum kommt jedoch bei Wurzelhaaren, Pollenschläuchen, aber auch Milchröhren vor.

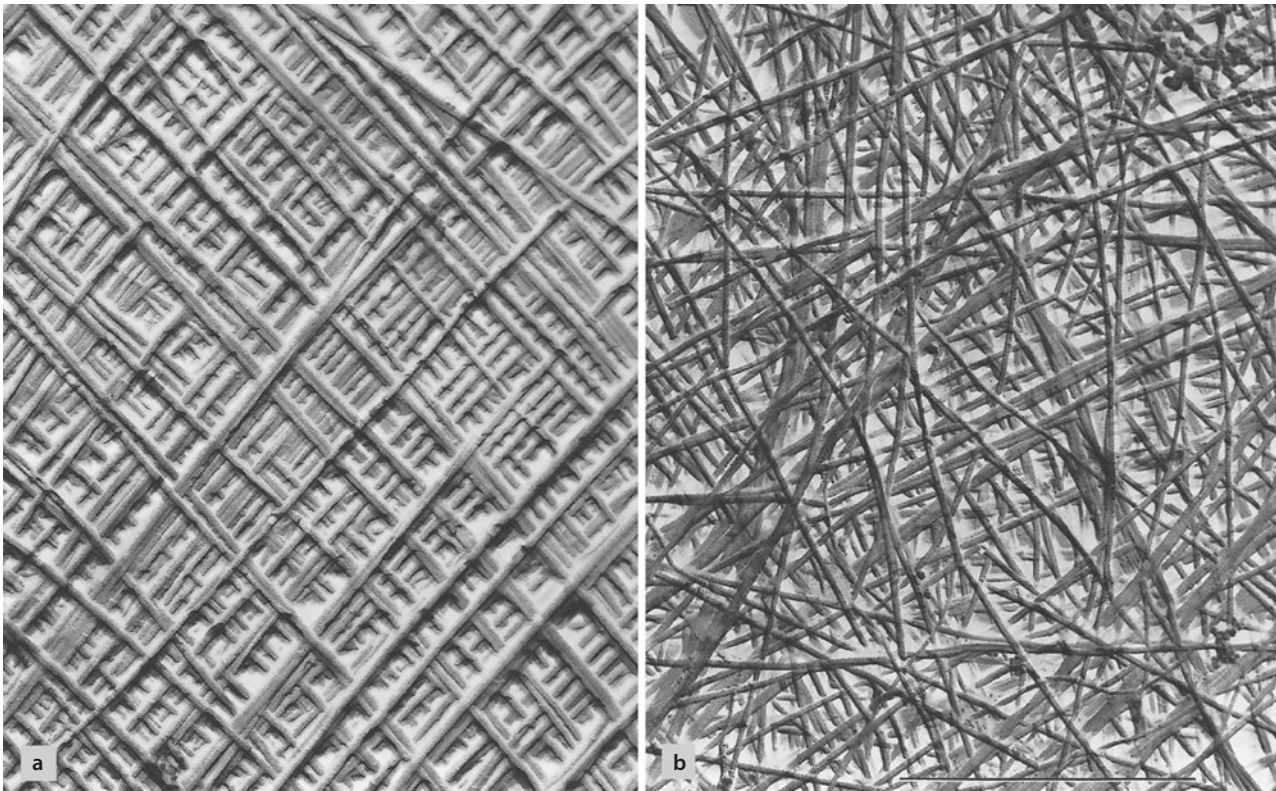
Dennoch gibt es auch bei diffus wachsenden Zellen in der Regel eine klare Achse des Wachstums. Diese wird durch die Verlaufsrichtung der Gerüstfibrillen in den sich gerade bildenden Wandlamellen bestimmt. Diese hängt mit den an der Innenseite der Plasmamembran in parallelen Bündeln angeordneten **corticalen Mikrotubuli** (Abb. 1.13) zusammen, an denen die Cellulose-Synthase-Komplexe entlanggezogen werden. Für diese Bewegung sind, neben der Kraft, die aus der Cellulosekristallisation in der flüssigen Membran entsteht, eigene Kinesinmotoren verantwortlich, die über Zwischenproteine mit den Cellulose-Synthasen verknüpft sind. Als Reaktion auf Licht, Schwerkraft, mechanische Reizung oder Pflanzenhormone kann sich die Richtung der Mikrotubuli (in sich streckenden Zellen quer zur Zellachse) ändern, was in der Regel von entsprechenden Richtungsänderungen der Cellulosefibrillen begleitet wird. Umgekehrt können mechanische Kräfte, die auf die Cellulosefibrillen ausgeübt werden, dazu führen, dass sich die corticalen Mikrotubuli entsprechend ausrichten. Aufgrund biophysikalischer Erwägungen (in einem Zylinder ist die Wandspannung in Querrichtung doppelt so groß wie in Längsrichtung) sollte sich eine turgeszente Pflanzenzelle vor allem in Querrichtung ausdehnen, obwohl der Turgor allseitig wirkt. Sind die Gerüstfibrillen in der sich gerade bildenden Wandlamelle wie Fassdauben quer orientiert, wird diese Querexpansion unterbunden und die Zelle streckt sich. Die Suche nach einem Mechanismus, der die Querorientierung der Cellulosefasern erklären könnte, führte Paul Green (1962) dazu, die Existenz von „*micro-tubules*“ (Mikrotubuli) vorherzusagen, die bei Pflanzenzellen an der Innenseite der Plasmamembran zu finden sein sollten. Angeregt durch diese Vorhersage konnten Myron Ledbetter und Keith Roberts Porter (1963) diese Mikrotubuli mithilfe der Elektronenmikroskopie sichtbar machen und fanden auch heraus, dass die bereits lichtmikroskopisch nachgewiesenen Fasern der Teilungsspindel ebenfalls aus diesen Mikrotubuli bestand. Werden die Mikrotubuli durch Colchicin eliminiert, geht die regelmäßige Anordnung der Gerüstfibrillen verloren (Abb. 1.64). Damit gibt die Zellwand dem ungerichteten Turgor in allen Richtungen gleichartig nach und die Zelle rundet

sich ab. Bei vielen wachsenden Zellen hat man gefunden, dass die Orientierung der Gerüstfibrillen in aufeinanderfolgenden Lamellen der Primärwand jeweils um einen bestimmten konstanten Winkel gedreht ist. Verfolgt man die Apposition über 24 h, werden in der Regel 360°, also eine volle Umdrehung, erreicht – ein eindrucksvoller Ausdruck der circadianen Rhythmik (► Abschn. 13.2.3).

1.2.8.3 Plasmodesmen und Tüpfelfelder

Plasmodesmen sind plasmatische Verbindungen zwischen benachbarten Zellen durch die trennenden Zellwände hindurch. Sie vernetzen die Einzelzellen von Geweben zu einem symplastischen Kontinuum. Häufig treten Plasmodesmen in Gruppen auf, die als **primäre Tüpfelfelder** bezeichnet werden (► Abschn. 1.2.8.5). In ihrem Bereich sind die Zellwände oft dünner (Abb. 1.65c). Jeder Plasmodesmos ist in der Zellwand von einem Callosemantel umgeben. Da Callose (► Abschn. 1.2.8.6) nach Färbung mit Anilinblau fluoreszenzmikroskopisch leicht nachgewiesen werden kann, lassen sich Plasmodesmen trotz ihrer geringen Querdurchmesser von nur 30–60 nm auch im Lichtmikroskop gut lokalisieren (Abb. 1.65a). Im Elektronenmikroskop erweisen sie sich als einfache oder verzweigte Röhren (Abb. 1.65d–g und 1.66), die von der Zellmembran umgrenzt sind. Die Plasmamembranen der verbundenen Zellen gehen hier ineinander über. Jeder Plasmodesmos wird von einem ER-Tubulus durchzogen, dem **Desmotubulus** (Abb. 1.65e und 1.66), sodass das ER der beiden angrenzenden Zellen in einer kontinuierlichen Verbindung steht, wobei die Pforte durch angelagerte Strukturproteine massiv eingengt und in ihrer Durchlässigkeit beschränkt wird. Der hohlzylindrische Raum zwischen Desmotubulus und Zellmembran gehört dagegen dem cytoplasmatischen Kompartiment an und sollte nach seinen Dimensionen selbst für große Proteinmoleküle passierbar sein. Dieser Raum wird jedoch von spangenartigen Verbindungen zwischen Desmotubulus und Plasmamembran durchquert, die den Hohlzylinder in eine Vielzahl enger Mikrokanäle unterteilen. Außerdem laufen Actinfasern durch diesen Raum von Zelle zu Zelle. Über pflanzliche Myosine der Klasse VIII können die Plasmodesmen auch aktiv verengt werden. Daher ist die Durchlässigkeit der Plasmodesmen auf Partikel mit Molekülmassen unter 1 kDa (Durchmesser 2 nm) beschränkt. Einige Pflanzenviren, z. B. das Tabakmosaikvirus, können die Durchlässigkeit mithilfe besonderer Transportproteine (engl. *movement proteins*) stark erhöhen, sodass die Viruspartikel über die Plasmodesmen von Zelle zu Zelle wandern können (► Abschn. 11.4.2 und Abb. 11.20).

Viele Plasmodesmen werden schon bei der Zellteilung als Aussparungen in der Zellplatte angelegt (**primäre Plasmodesmen**). Doch werden Plasmodesmen auch später laufend neu gebildet, sodass ihre Zahl pro



■ **Abb. 1.64** Parallel- und Streutextur von Cellulosemikrofibrillen. Die Zellwand der Alge *Neglectella solitaria* besteht aus vielen übereinanderliegenden Lamellen. **a** Unter Normalbedingungen verlaufen die Gerüstfibrillen in jeder Lamelle parallel, von Lamelle zu Lamelle erfolgt Richtungswechsel um 90° (gekreuzte Textur). **b** Colchicin, unter dessen Einfluss sich die corticalen Mikrotubuli an der Innenseite der Zellmembran auflösen, bewirkt eine Streutextur (Maßstab $1\ \mu\text{m}$). (EM-Aufnahmen: D.G. Robinson)

Fläche auch in wachsenden Wänden oft etwa konstant bleibt (**sekundäre Plasmodesmen**), obwohl sich die Wandfläche während der postembryonalen Zellvergrößerung oft auf das über 100-Fache der Ausgangsfläche ausdehnt. Bei Pflöpfungen oder Parasitenbefall (z. B. durch *Cuscuta*, ■ Abb. 3.37A, 3.38, und 19.237d) können sogar über die Grenzen sorten- oder artverschiedener Individuen Plasmodesmen gebildet werden. Die Bildung der häufig verzweigten sekundären Plasmodesmen beginnt damit, dass ER an den gegenüberliegenden Seiten über Proteinbrücken mit der Plasmamembran verbunden wird (■ Abb. 1.67). In den beiden Nachbarzellen werden die Vorgänge bei der Bildung der sekundären Plasmodesmen durch Signale koordiniert.

Auf $100\ \mu\text{m}^2$ Wandfläche kommen in Parenchymgewebe 5–50 Plasmodesmen. Kooperieren benachbarte Zellen eng miteinander, wie Geleitzellen und Siebröhrenglieder im Phloem (► Abschn. 2.3.4.1) oder Mesophyll- und Bündelscheidenzellen bei C_4 -Pflanzen (► Abschn. 14.4.8), können auch wesentlich höhere Plasmodesmendichten vorkommen. In Meristemen finden sich über 1200 pro $100\ \mu\text{m}^2$. Umgekehrt sind diese bei physiologisch isolierten Zellen, z. B. von den Schließzellen der Spaltöffnungen zu den Nebenzellen (► Abschn. 2.3.2.1), besonders selten.

Sollen zwischen Zellen Massenströme möglich sein, werden Plasmodesmen sekundär stark erweitert. Das be-

kannteste Beispiel dafür sind die **Siebporen** in den Siebplatten der Phloemleitungsbahnen (► Abschn. 2.3.4.1). Die Größe dieser Wanddurchbrechungen liegt gewöhnlich zwischen $0,5$ und $3\ \mu\text{m}$, kann in Extremfällen jedoch $15\ \mu\text{m}$ erreichen. Umgekehrt können Plasmodesmen auch versiegelt oder unter Beteiligung von ubiquitinvermittelter Proteolyse ganz abgebaut werden. Stirbt beispielsweise eine Zelle im Gewebe ab, werden ihre Plasmodesmen durch eine sehr rasch erfolgende Verdickung ihres Callosemantels zgedrückt und verschlossen, sodass die Nachbarzellen ungestört überleben können. Gelegentlich können ursprünglich vorhandene Plasmodesmen auch ganz verschwinden, wenn ursprünglich symplastisch verbundene Zellen im Zuge morphogenetischer Prozesse von ihrer Nachbarschaft isoliert werden sollen. Entgegen älteren Vorstellungen sind Plasmodesmen keine statischen, sondern hoch dynamische Gebilde, deren Häufigkeit und Durchlässigkeit besonderen lokalen Bedürfnissen rasch angepasst werden können.

In Geweben von Tieren kommen Plasmodesmen nicht vor. Allerdings können benachbarte Zellen dort über Gap Junctions – besondere Plasmamembranregionen mit vielen, von jeweils sechs Proteinmolekülen (Connexinen) gebildeten Kanälen (Connexonen) – phy-

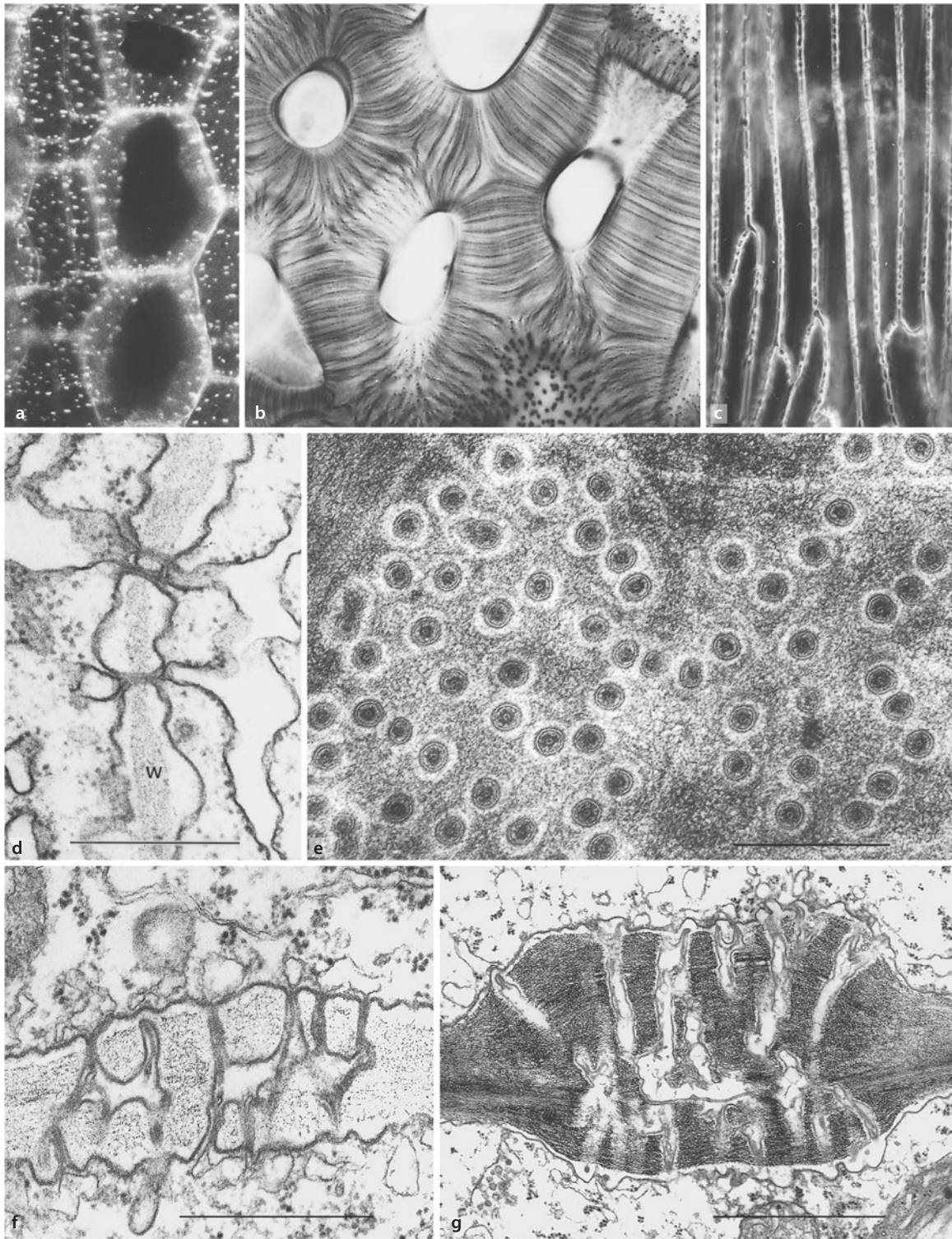
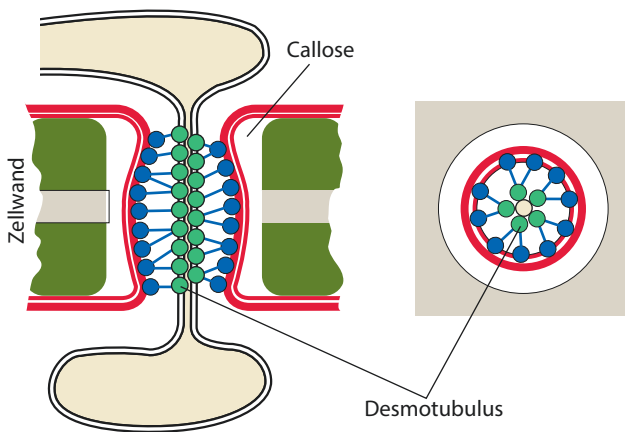


Abb. 1.65 Plasmodesmen und primäre Tüpfelfelder im LM und im EM. **a** Durch Anilinblaufluoreszenz der Callose sichtbar gemacht im Sprossparenchym des Kürbis *Cucurbita pepo* (220 ×). **b** Durch Jod-Silber-Imprägnierung kontrastiert in verdickten Zellwänden des Endosperms von *Diospyros villosa* (770 ×). **c** Zellwände in der Scheidewand der Schote des Silberblatts *Lunaria rediviva*; die scheinbaren Wanddurchbrechungen sind Dünnstellen, die primären Tüpfelfeldern entsprechen (300 ×). **d** Plasmodesmen mit rER-Kontakt in der Wand zwischen Kalluszellen von *Vicia faba* (Maßstab 0,5 µm). **e** Quergeschnittene Plasmodesmen eines primären Tüpfelfeldes bei *Metasequoia glyptostroboides*; jeder Plasmodesmos von trilaminarer Zellmembran gegen hellen Callosemantel in der Zellwand abgegrenzt, mit zentralem Desmotubulus. **f, g** Modifikationen primärer Plasmodesmen zwischen Strasburger-Zellen in den Nadeln von *Metasequoia glyptostroboides*, frühes Entwicklungsstadium und Endstadium. (Maßstäbe 0,2 µm.) – W Wand. (a LM-Aufnahme: I. Dörr; b LM-Aufnahme: I. Dörr u. B. von Cleve; c Dunkelfeldaufnahme; d-g EM-Aufnahmen: R. Kollmann; C. Glockmann)



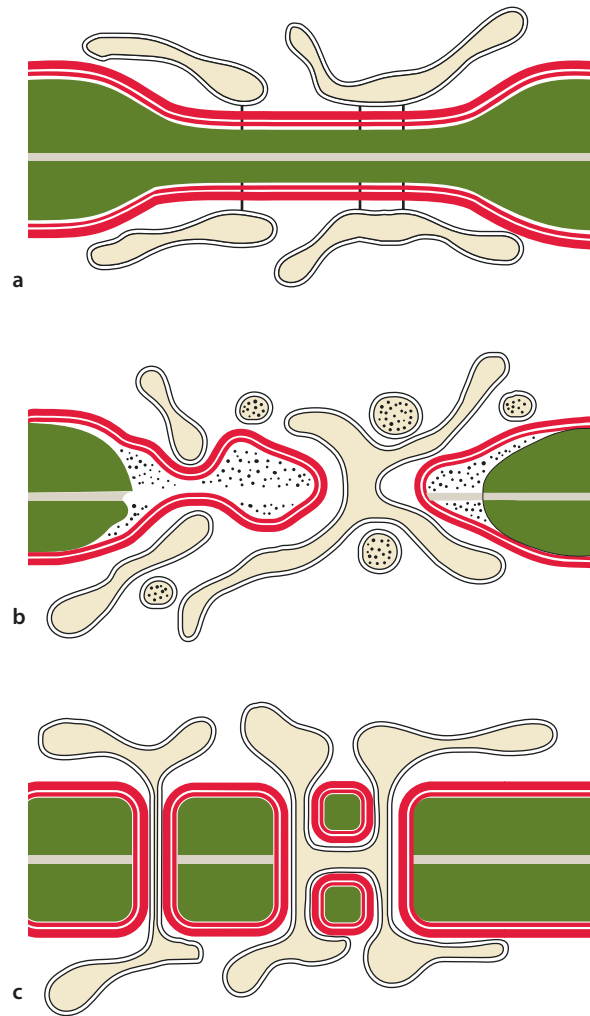
■ **Abb. 1.66** Modell des Feinbaus eines Plasmodesmas, links Längs-, rechts Querschnitt. Zellmembran rot. (Nach W.J. Lukas)

siologisch gekoppelt sein. Plasmodesmen und Connexone sind analog, üben also ähnliche Funktionen aus, nämlich den Austausch von Ionen und Signalmolekülen zwischen Zellen. Sie sind jedoch unterschiedlich gebaut, also nicht homolog.

1.2.8.4 Sekundärwände von Faser- und Holzzellen

Bei Wasserpflanzen wird das Gewicht des Vegetationskörpers durch den Auftrieb kompensiert. Landpflanzen müssen dagegen ihr Gewicht selbst tragen können (Ausnahme sind Kletterpflanzen, wobei diese oft erheblichen Zugkräfte, beispielsweise durch Wind, bewältigen müssen; ■ Tab. 3.1). Pflanzen ohne besondere Festigungsgewebe (► Abschn. 2.3.3) sind zum Zwergenwuchs verdammt und in der Konkurrenz um Licht im Nachteil. Die Entwicklung von Festigungsgewebe brachte daher große Vorteile und setzte sich schon früh in der Evolution der Landpflanzen durch – die Moosartigen (Bryophyten), denen diese Eigenschaft fehlt, führen als lebende Fossilien eher ein Nischendasein. **Festigungsgewebe** können aus zwei Zelltypen aufgebaut sein, die den Holzstoff Lignin enthalten: Faserzellen (bei Zugbeanspruchung) und verholzte Zellen mit starren Wänden (wenn einem äußeren Druck widerstanden werden soll, wie es für Steinzellen, Tracheiden oder Tracheen zutrifft).

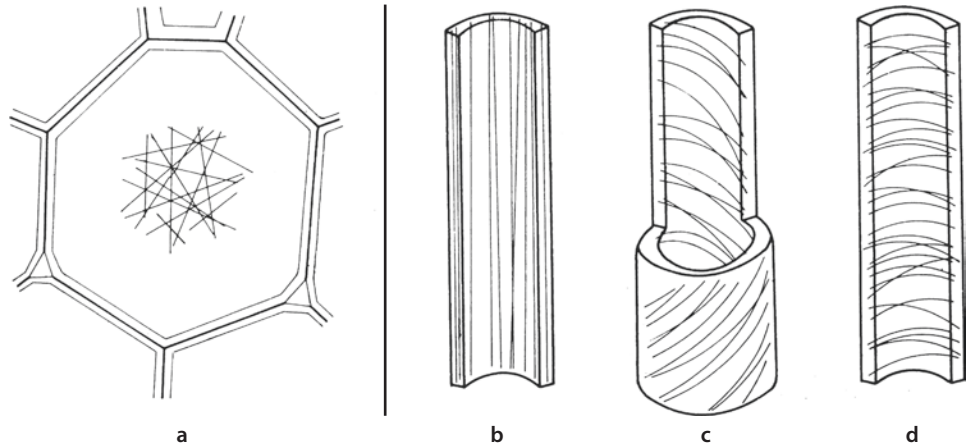
Die massiven, sekundären Verdickungsschichten der Wände von **Faserzellen** und manchen Pflanzenhaaren (z. B. der Baumwolle) bestehen überwiegend aus dicht gepackten Cellulosemikrofibrillen. Der Trockenmasseanteil kann in diesen Wandlagen 90 % erreichen. Solche Faserzellen (ebenso wie manche dickwandigen Haarzellen) reißen auch bei starker Zugbeanspruchung nicht, sind aber dennoch flexibel. Was für die Gerüstmikrofibrille auf einer makromolekularen Ebene gilt, spiegelt sich hier auf einem höheren Dimensions- und Strukturniveau wider. Auf diesen Eigenschaften pflanzlicher Faserstoffe beruht auch ihre große wirtschaftliche Bedeutung.



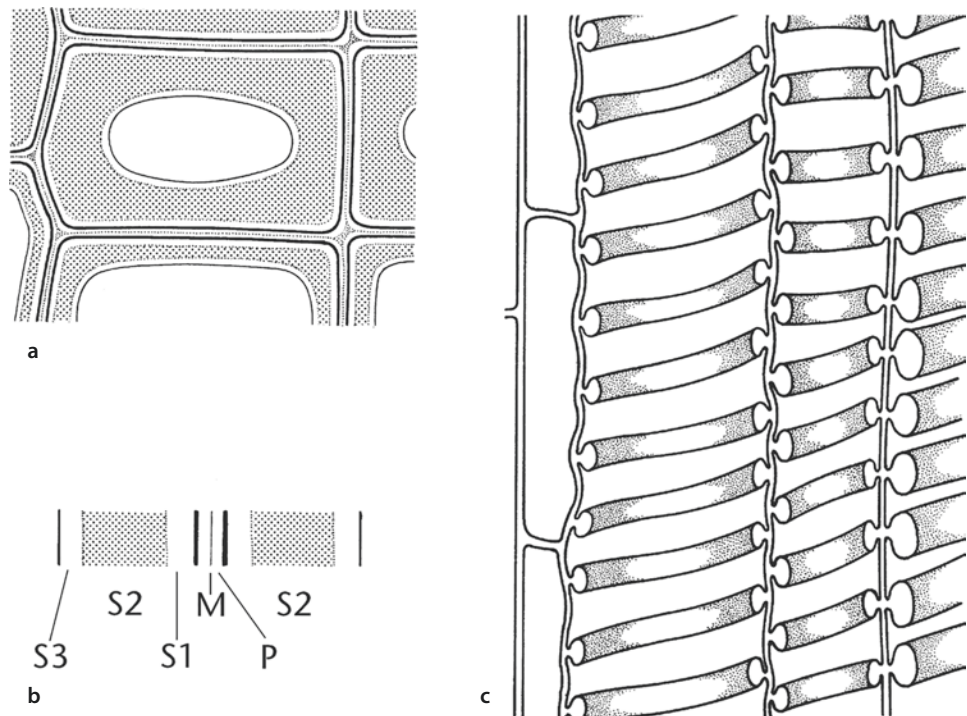
■ **Abb. 1.67** Entstehung sekundärer Plasmodesmen. **a** ER-Elemente zweier Nachbarzellen haben sich der Zellmembran (rot) genähert und werden über Proteinbrücken fixiert; die Zellwand (grün) wird an dieser Stelle abgebaut. **b** Die ER-Elemente beider Zellen fusionieren; Golgi-Vesikel liefern neues Wandmaterial. **c** Die wieder komplettierte Zellwand ist teilweise von verzweigten sekundären Plasmodesmen durchsetzt (Mittelknoten im Bereich der Mittellamelle). (Nach R. Kollmann und C. Glockmann)

Da die sekundären Wandschichten erst nach Abschluss des Flächenwachstums der primären Zellwand von innen her aufgelagert werden, verengt sich das Zellinnere zunehmend. Oft ist der Raum für den lebenden Protoplasten zuletzt auf weniger als 5 % des Ausgangsvolumens reduziert, bevor die Zelle abstirbt. In solchen Fällen wird die Funktion also nicht von der lebenden Zelle selbst ausgeübt, sondern durch die von ihr zurückgelassene Wandhülle. Cellulosemikrofibrillen liegen immer parallel zur Zellmembran. In der dadurch vorgegebenen Fläche sind aber verschiedene Anordnungen möglich (**Texturen**; lat. *textūra*, Gewebe, Geflecht; ■ Abb. 1.64 und 1.68). Während primäre Wände meistens Streu-(Folien-)textur aufweisen (häufig allerdings mit einer Vorzugsrichtung, ► Abschn. 1.2.8.2), sind die Lamellen se-

■ **Abb. 1.68** Anordnung der Cellulosemikrofibrillen in Zellwänden. **a** Eine Streutextur ist typisch für die Primärwände isodiametrischer Zellen. Sekundäre Wandlamellen weisen dagegen **Paralleltextur** auf: **b** Fasertextur, **c** Schraubentextur (die häufigste Form), **d** Röhrentextur



■ **Abb. 1.69** Sekundäre Wandverdickungen in der Tracheidenwand einer Konifere. **a** Querschnitt (800×). **b** Schichten der Zellwand. **c** Schraubentracheen beim Kürbis mit charakteristischen Verdickungsleisten, die der S2-Schicht angehören (vgl. ■ Abb. 2.26E); links Parenchymzellen. – M Mittellamelle, P Primärwand (Sakkoderm); S1 Übergangslamelle; S2 eigentliche, aus vielen Lamellen aufgebaute Sekundärwand, S3 Tertiärwand. (a, b nach I.W. Bailey)



kundärer Wandlagen durch **Paralleltextur** ausgezeichnet. Bei lang gestreckten Zellen, wie es vor allem auch die Faserzellen sind, herrschen Schraubentexturen vor. Dabei können die Fasern unterschiedliche Ausrichtungen zwischen quer (Röhrentextur) und längs (Fasertextur) einnehmen. Die Texturrichtung entspricht der Richtung größter Zugbelastung, die so abgefedert werden kann. Der Drehsinn der Schraubentextur kann entweder nach rechts (Z-Schraube, weil der Gewindevorlauf in Blickrichtung so wie die Mittelpartie des Buchstabens Z aussieht) oder nach links (S-Schraube) orientiert sein. Die Fasern von Hanf und Jute sind Z-Schrauben, während die von Flachs und Nessel S-Schrauben sind. In Pflanzenhaaren mit verdickten Wänden kann der Windungssinn mehrfach wechseln, bei den mehrere Zentimeter langen Baumwollhaaren bis 150 Mal. Die Röhrentextur wäre

denkbar schlecht geeignet, Zugspannungen aufzufangen und kommt bei Faserzellen daher nicht vor. Sie ist aber typisch für die Milchröhren vieler Pflanzen, von denen sich diese Bezeichnung ableitet (► Abschn. 2.3.5.1). Die Milchröhren stehen unter einem Binnendruck. Ähnlich wie bei turgeszenten Einzelzellen sollte der isotrope Flüssigkeitsdruck zu einer Aufweitung führen, was aber aufgrund der Wandstruktur nicht geschieht.

Die Apposition sekundärer Wandschichten erfolgt schubweise, sodass sich Lamellen bilden. Eine Lamelle entspricht häufig einem Tageszuwachs, mehrere Lamellen können wiederum zu Stapeln verbunden sein, die als **Sekundärwandschichten** bezeichnet werden. Das allgemeine Bauschema und die übliche Benennung der Schichten sind in ■ Abb. 1.69 dargestellt. Auf die Primärwand (Sakkoderm) folgt zunächst eine vergleichs-

weise dünne Sekundärwandschicht, die S1-Schicht (Übergangsschicht), mit flacher Schraubentextur. Ihr folgt nach innen (also später angelegt) die dicke S2-Schicht, die aus über 50 Wandlamellen bestehen kann. Diese Schicht ist in funktioneller Hinsicht entscheidend. Die dicht gepackten Gerüstmikrofibrillen weisen hier eine Schrauben- oder eine Fasertextur auf. Zum Zelllumen hin wird als letzte Lage eine dünne S3-Schicht (Tertiärwand) mit wieder abweichender Textur aufgelagert. Sie kann ihrerseits noch einmal von einer strukturell und stofflich stark abweichenden Schicht bedeckt sein, die isotrop homogen ist und aufgrund ihrer körnigen Oberfläche als Warzenschicht bezeichnet wird.

In druckfesten Zellwänden sind die Gerüstfibrillen in formfeste Materialien eingepackt (inkrustiert). Bei Süß- und Sauergräsern (Poaceae und Cyperaceae) können diese **Inkrusten** Silikate enthalten, bei den Dasycladales kommt auch Calciumcarbonat vor. Am wichtigsten sind jedoch als **Verholzung** (lat. *lignum*, Holz) bezeichnete Inkrustierungen mit **Ligninen**, die Zellwände durchziehen. Lignine entstehen in der verholzenden Zellwand durch Polymerisation aus Phenolkörpern (Monolignole, ► Abschn. 14.14.1), ■ Abb. 14.115, 14.116 und 14.117), die in Form löslicher Glucoside über Golgi-Vesikel exocytiert werden. Die Lignine von Nadelhölzern (die zu den Gymnospermen gehören) unterscheiden sich von denen der Laubhölzer (die zu den Angiospermen gehören), das Lignin der Monokotyledonen bildet wiederum eine dritte Form. Die in alle Raumrichtungen wachsenden Riesenmoleküle des Lignins durchwuchern das Mikrofibrillengerüst der Zellwände. Da Ligninmakromoleküle miteinander sekundär zu größeren Einheiten verwachsen und sich über die (oft besonders stark lignifizierte) Mittellamellen hinweg ausdehnen können, entspricht die Ligninmasse eines Baumstamms zuletzt vermutlich einem einzigen gigantischen Polymermolekül, dessen Masse in Tonnen auszudrücken ist. Die ursprüngliche Zellwandmatrix wird bei der Lignifizierung durch das kompakte Ligninpolymerisat zunächst zusammengedrückt und letztlich nach außen verdrängt. Verholzte Zellwände bestehen im typischen Fall zu etwa 2/3 aus Cellulose und resistenten Hemicellulosen (überwiegend Xylane; griech. *xylon*, Holz) und zu 1/3 aus Lignin.

Die Cellulosefibrillen sind schließlich so dicht in Lignin eingepackt, dass sie sich nicht mehr gegeneinander verschieben können und ihre an sich schon sehr begrenzte Quellungsfähigkeit ganz verlieren. Diese Eigenschaft kann dazu genutzt werden, Primärwände und verholzte Sekundärwände histochemisch zu unterscheiden: Während die Cellulose in Primärwänden durch eine konzentrierte Chlorzinkjodlösung so weit aufgelockert wird, dass sie Jod einlagern kann und sich dabei tiefviolett färbt, bleibt diese Reaktion in verholzten Wänden aus. Eine weitere Nachweismethode nutzt den Farbstoff Astrablau. Die hervorragenden Festigkeitseigenschaften

von Holz beruhen letztendlich auf der gegenseitigen Durchdringung reißfester, biegsamer Gerüstfibrillen mit dem dichten, starren Füllmaterial Lignin.

Im Holzteil (Xylem) von Leitbündeln und im Holz mehrjähriger Sprossachsen oder Wurzeln müssen in Zusammenhang mit dem Wassertransport beträchtliche Kräfte aufgefangen werden. Zwar leiten sich die wasserleitenden Xylemelemente (Tracheiden und Tracheen, ► Abschn. 2.3.4.2) von lebenden Zellen ab, sind aber im funktionellen Zustand nur noch tote, durch Lignifizierung ausgesteifte Zellwandröhren. Dank ihrer Lignifizierung sind Xylemstränge und Holz nicht nur Leitungsbahnen für den Ferntransport von Wasser, sondern gleichzeitig auch oft die wichtigsten tragenden Strukturen im Vegetationskörper von Landpflanzen.

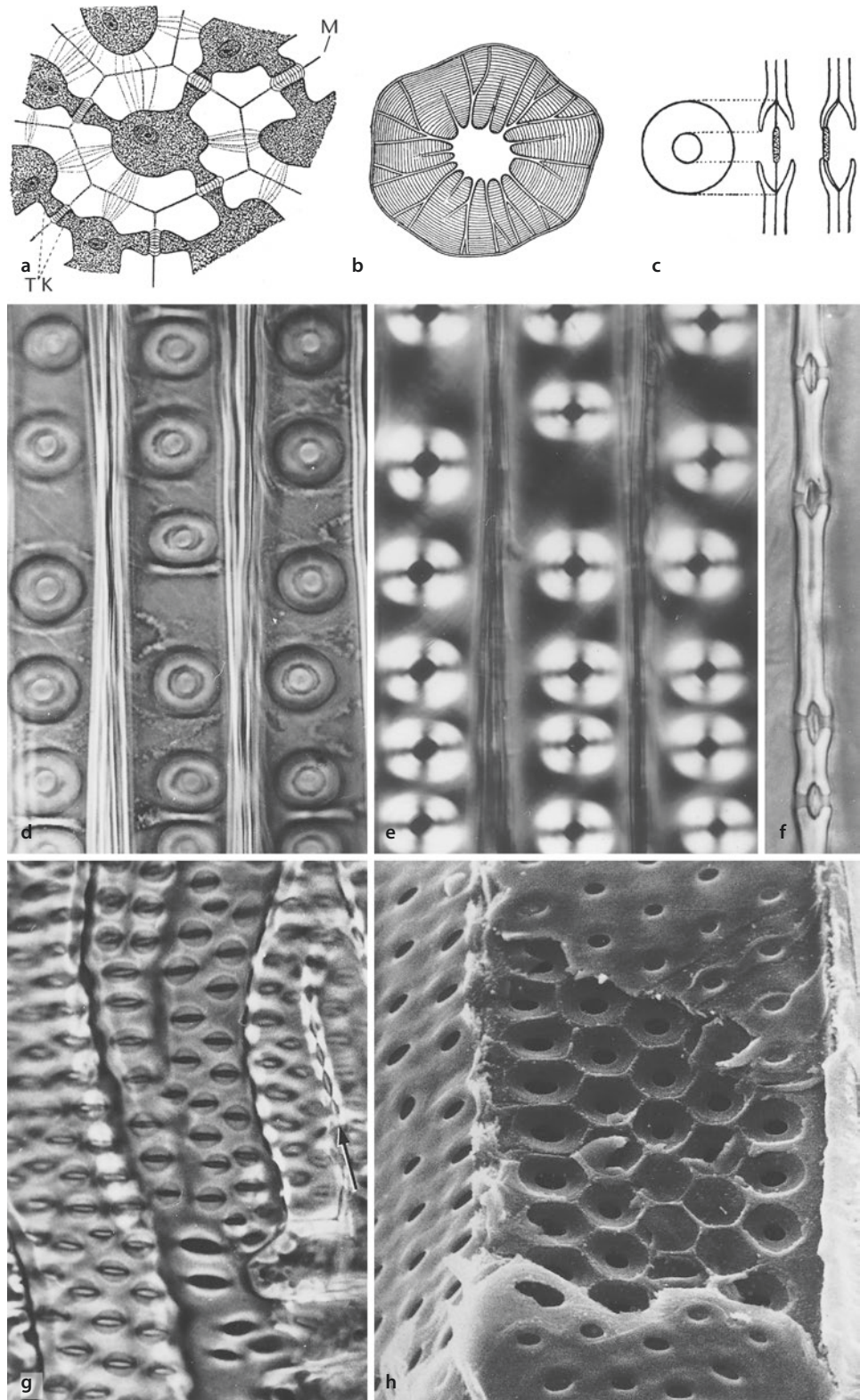
1.2.8.5 Tüpfel

Lignifizierung macht Zellwände nicht nur starr, sondern auch weniger durchlässig. Während unverholzte Primärwände Teilchen mit Durchmessern bis 5 nm noch passieren lassen, ist in verholzten Wänden sogar die Wasserpermeabilität stark herabgesetzt. Dies ist für die Wasserleitungsbahnen in Wurzeln, Sprossen und Blättern wichtig: Durch die Verholzung wird verhindert, dass das Wasser seitlich auslecken kann. Wo allerdings Wasserdurchtritt (oder allgemein Stoffaustausch) erforderlich ist, werden **Tüpfelkanäle**, Wandkanäle lichtmikroskopischer Dimensionen, angelegt (■ Abb. 1.70). Diese Tüpfelkanäle müssen in benachbarten Zellen korrespondieren. Sie treffen sich an primären Tüpfelfeldern, wobei die noch vorhandene Primärwand und die Mittellamelle als Schließhäute der Tüpfel fungieren. Für Wasserleitungsbahnen sind **Hoftüpfel** (engl. *bordered pits*) charakteristisch. Bei ihnen sind die sekundären Wandschichten rund um den Tüpfelkanal (Porus) von der Schließhaut abgehoben, sodass ein trichterförmiger Hof entsteht. Vor allem die Tracheiden mancher Nadelhölzer zeichnen sich durch besonders große, kreisrunde Hoftüpfel aus, durch die das im Stamm aufsteigende Wasser strömt. Die Schließhäute sind in der Mitte zu einem Ring (**Torus**) verdickt, der an radialen Haltefäden aus Cellulose locker aufgehängt ist. Das Wasser kann zwischen den Haltefäden aus einer Tracheide in die nächste fließen. Bei Luftembolien wirken Hoftüpfel als Rückschlagventile, indem der Torus an den unterdruckseitigen Porus angepresst wird und ihn verschließt (■ Abb. 1.70c).

1.2.8.6 Isolierende Sekundärwände

Zu den wichtigsten Voraussetzungen für das Pflanzenleben (und aktives Leben überhaupt) gehört die ständige Verfügbarkeit von Wasser (► Abschn. 14.2). Landpflanzen, die ein Austrocknen an der Luft verhindern können, wurden evolutionär begünstigt. Wasserundurchlässige

Abb. 1.70 Tüpfel. **a** Ausschnitt aus dem Steinendosperm der Elfenbeinpalme *Phytelphas*; die stark verdickten Zellwände dienen hier als Depot für Reservepolysaccharide; die Zellen stehen über Plasmodesmen in Verbindung, besonders auch zwischen Tüpfelkanälen (230 \times). **b** Steinzelle (Skleraide) aus der Walnusschale mit verzweigten Tüpfelkanälen; Kanäle, die scheinbar nicht alle Sekundärwandlamellen durchsetzen, verlaufen schräg aus der Schnittebene heraus (670 \times). **c-f** Hoftüpfel von Koniferen. **c** Schematisch, links Aufsicht, Mitte Längsschnitt; rechts dsgl., Ventilwirkung bei einseitigem Druck. **d, e** Hoftüpfel der Kiefer *Pinus sylvestris* im radialen Längsschnitt, im Phasenkontrast und im Polarisationsmikroskop (die Cellulosefibrillen umlaufen den schwarzen Porus zirkulär; die konzentrische Gesamtstruktur zeigt daher das Sphäritenkreuz) (330 \times). **f** Hoftüpfel der Legföhre *Pinus mugo*, tangentialer Längsschnitt: Hofbildung durch Abheben der Sekundärwände, Porus und Schließhaut mit Torus erkennbar (600 \times). **g, h** Hoftüpfel bei Laubböhlzern. **g** Mit schlitzförmigem Porus (Katzenaugen) in Gefäßwänden der Eiche *Quercus robur*, rechts auch im Wandquerschnitt (Pfeil; 530 \times). **h** Tüpfelgefäß im Holz einer Weide (*Salix*) (1000 \times). – M Mittellamelle, TK Tüpfelkanäle. (a nach W. Halbsguth; b nach Rothert und Reinke; c-f LM-Aufnahme: H. Falk; g REM-Aufnahme: A. Resch)



Sekundärwandschichten auf der Außenfläche sind hier zentral. Im Gegensatz zu den Sekundärwänden, die der mechanischen Festigkeit dienen und daher immer viel Cellulose enthalten, bestehen die abdichtenden Sekun-

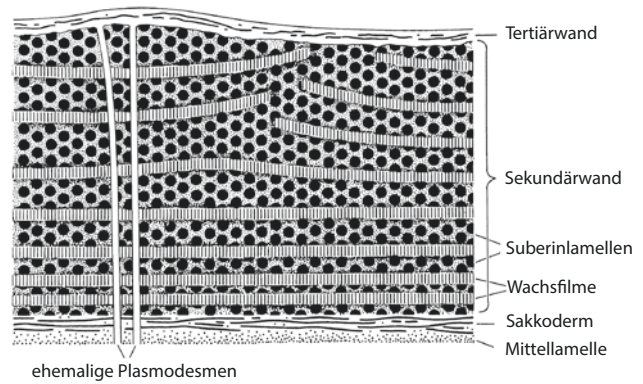
därwandschichten aus wasserundurchlässigem, hydrophobem Material und enthalten im typischen Fall keine Cellulose. Die Wasserundurchlässigkeit wird durch Anlagerung (**Akkrustierung**) lipophiler Massen an die Pri-

märwand erreicht, die als Matrice für die Akkrustierung dient und die erforderliche mechanische Festigkeit gewährleistet. Als Akkruste fungiert im Fall der Epidermen das **Cutin** (lat. *cutis*, Haut, Oberfläche) und bei Korkzellen ist es das chemisch verwandte **Suberin** (lat. *suber*, Kork; ▶ Abschn. 14.15.3). Cutin und Suberin bilden eine Polymermatrix, in die zusätzlich als besonders hydrophobe Komponenten verschiedene Wachse eingelagert sind.

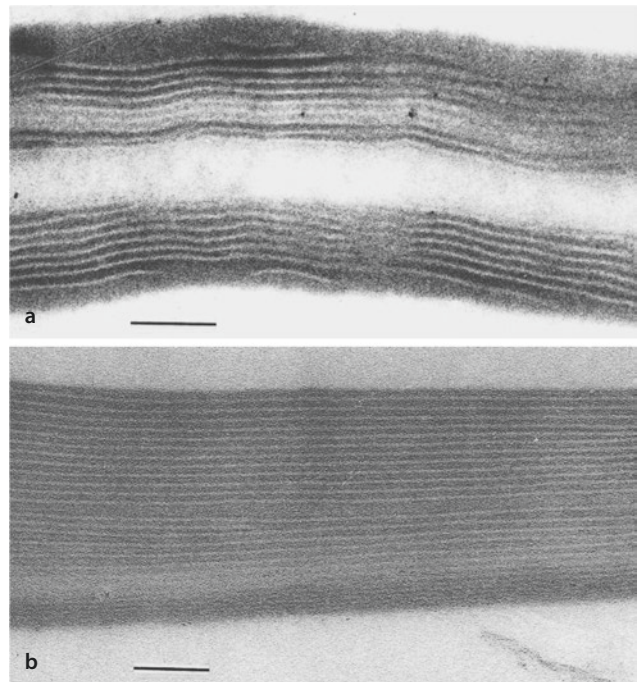
Die **verkorkte Zellwand** besteht aus einer innerhalb der Primärwand liegenden cellulosefreien **Suberinschicht** (■ Abb. 1.71), die meistens auf der dem Zelllumen zugewandten Seite von einer dünnen weiteren Tertiärwand bedeckt wird, die Cellulose enthält. Für die Funktion ist aber die wasserabweisende Suberinschicht entscheidend, die eingelagerte Wachslamellen von 3 nm Dicke enthält (■ Abb. 1.72a). Die stabförmigen Wachsmoleküle (überwiegend Ester von Fettsäuren mit Wachsalkoholen) sind dabei senkrecht zur Lamellenebene orientiert. Nach dem Entfernen der Wachse bleibt die unlösliche, amorph-isotrope Polymermatrix zurück, das eigentliche Suberin. Diese Matrix stellt ein dreidimensionales, vernetztes Kondensat aus langkettigen Fettsäuren, Fettalkoholen und verwandten Verbindungen dar, das nur mäßig hydrophob (für Wasser durchlässig) ist. An diesem stabilen Träger sind die eigentlichen Wasserbarrieren verankert, die zarten Wachsfilme. Durch die Lamellenbauweise der Sekundärwände wird sichergestellt, dass selbst bei Defekten in einzelnen Lagen insgesamt eine sehr wirksame Barriere erhalten bleibt.

Die molekularen Bausteine von Suberin und Wachslamellen werden nicht exocytotisch mithilfe von Golgi-Vesikeln sezerniert, sondern durch Diffusion. Sie müssen also von ihrem Bildungsort im glatten ER durch das Cytoplasma zur Plasmamembran gelangen und diese passieren. Sowohl Transport als auch Membranpassage erfolgen mithilfe von amphiphilen **Lipid-Transfer-Proteinen** (LTPs). Eine Suberinschicht kann sich recht rasch bilden, beim Wundverschluss sind nur wenige Stunden nötig, bis die Wunde abgedichtet ist.

Die **Cuticula** (▶ Abschn. 2.3.2.1) ist im Prinzip ähnlich gebaut wie die Suberinschicht verkorkter Zellen. Auch sie ist der primären Zellwand aufgelagert, lipophil und frei von Cellulose. Die Cuticula wird aus einer Cutinpolymermatrix mit oberflächenparallelen Wachsfilmen gebildet, die ebenfalls in Lamellen organisiert sind (■ Abb. 1.72b). Die molekularen Bausteine müssen hierfür von den Epidermiszellen durch die Plasmamembran und dann noch durch die Primärwand transportiert werden, damit die Akkrustierung auf der Außenseite der Primärwand erfolgen kann. Auf diese Weise entsteht eine alle Epidermiszellen überspannende akkrustierte Wandlage, die Cu-



■ **Abb. 1.71** Feinbaumodell der verkorkten Zellwand. Die lipophile Suberinschicht enthält keine Cellulose. In der Tertiärwand treten wieder Gerüstfibrillen auf




■ **Abb. 1.72** Lamellenbau akkrustierter Zellwandschichten (Querschnitte); Wachsfilme unkontrastiert, Polymermatrix (Suberin, Cutin) dunkel. **a** Zellwand aus Wundkork der Kartoffel; Wände zweier benachbarter Korkzellen mit lamellierten Suberinschichten. **b** Abgelöste Cuticula von *Agave americana*. (Maßstäbe 0,1 µm.) (EM-Aufnahmen: A H. Falk; B J. Wattendorff)


ticula. Die Cuticularwachse enthalten längere Kohlenwasserstoffketten als die Korkwachse, sie sind dementsprechend noch stärker hydrophob (die Zahl der C-Atome liegt bei ihnen bei 25–33 gegenüber 18–28 bei Korkwachsen).

Besonders bei Pflanzen trockener Standorte finden sich Wackskristalle auf der Oberfläche der Cuticula (**epicuticulares Wachs**, vgl. ■ Abb. 2.13), wodurch die Cuticula unbenetzbar wird. Oft kommt es auch zur Ein-


lagerung von Cutinmassen in die äußeren Lamellen der Primärwand von Epidermiszellen, also unterhalb der eigentlichen Cuticula. Hier bilden Cutin und Begleitwachs die Inkrusten. Da sich die hydrophoben Wandstoffe nur schlecht mit den hydrophilen Komponenten der Primärwand mischen, wird die Feinstruktur in solchen Bereichen gestört. Derartige Wachsfilm sind daher häufig unterbrochen, sie liegen nicht mehr oberflächenparallel und selbst bei dicken Cuticularschichten ist der zusätzliche Transpirationsschutz nur mäßig. Entsprechende Phänomene gibt es bei Korkzellen nicht; im mehrschichtigen Korkgewebe kann eine verbesserte Abdichtung durch die Bildung weiterer Korkzelllagen erreicht werden, während die Cuticula auf die an die Luft grenzenden Epidermisaußenflächen beschränkt bleibt und daher grundsätzlich einschichtig ist.





Auch die Körperoberfläche von Arthropoden ist mit einer Cuticula bedeckt. Während die massiv ausgebildeten inneren Schichten etwa der Insektencuticula (Endo- und Exocuticula) als chitinhaltiges Exoskelett vor allem eine mechanische Festigkeit vermitteln, ist die außen akkrustierte Epicuticula durch ihren hohen Wachsgehalt ein ausgezeichneter Transpirationsschutz. Die Epicuticula weist sowohl in chemischer wie feinbaulicher Hinsicht viele Parallelen zur Pflanzencuticula auf: ein eindrucksvolles Beispiel konvergenter Evolution bei Tier und Pflanze.

Auch die in der Regel mikroskopisch kleinen Sporen und Pollenkörner besitzen akkrustierte Zellwände (**Sporodermen**,  Abb. 3.91 und 3.93). Als Akkrusten treten hier die besonders widerstandsfähigen **Sporopollenine** auf. Ihre Funktion besteht nicht in der Rückhaltung von Wasser; sowohl die Sporen als auch die Pollenkörner können völlig austrocknen, ohne ihre Lebensfähigkeit zu verlieren. Neben dem Schutz vor schädlicher UV-Strahlung sind die Sporopollenine beim Pollen auch für die Erkennung von Eigenpollen auf der Narbe wichtig. Sporodermen weichen nicht nur funktionell, sondern auch in ihrer chemischen Zusammensetzung, ihrem Feinbau und ihrer Entwicklung völlig von den Cutinwänden der Epidermen und den Suberinschichten der Korkzellen ab. Ihre oft komplex ausgestaltete Oberfläche ist für die Systematik und die Rekonstruktion von Vegetationsentwicklungen (Pollenanalyse, **Palynologie**) bedeutsam.

Ein Abdichtungsmaterial besonderer Art ist die **Callose**, ein Glucan mit 1→3-verknüpften Monomeren, das schraubenförmige Moleküle bildet und stets in sehr kompakter Form ohne Beimengung anderer Stoffe auftritt. Durch Callose können Plasmodesmen und Siebporen ( Abschn. 1.2.8.3) verschlossen werden, aber auch eindringende Pilzhypen abgeschottet werden. Callose kann an der Plasmamembran rasch in beträchtlicher Menge synthetisiert und auch rasch wieder abgebaut werden; vielfach spielt sie die Rolle eines schützenden Verbands auf zellulärer Ebene.

1.2.9 Plastiden – Werkzeuge der Photosynthese

Plastiden treten in ein und derselben Pflanze in verschiedenen Formen auf. Das ist schon äußerlich-makroskopisch an unterschiedlichen **Pigmentierungen** erkennbar: Die Proplastiden der Bildungsgewebe und die Leukoplasten des Grund- und Speichergewebes sind farblos, Chloroplasten sind aufgrund des in ihnen enthaltenen Chlorophylls grün gefärbt, die Gerontoplasten des Herbstlaubs und die Chromoplasten in Blüten- und Fruchtblättern werden durch Carotinoide gelb bis rot gefärbt. Alle Plastidenformen sind ineinander umwandelbar, nur Gerontoplasten sind Endstufen einer irreversiblen Entwicklung. Plastiden werden von einer doppelten **Membranhülle** (engl. *plastid envelope*) gegen das Cytoplasma abgegrenzt. Die äußere Membran ist aufgrund relativ großer Poren viel durchlässiger als die innere, die mit vielen spezifischen Translokatoren ausgestattet ist. Auch steht die äußere Membran durch Membranfluss mit dem übrigen Endomembransystem im Austausch ( Abschn. 1.2.7). Die innere Plastidenhülle ist hingegen abgetrennt. Hier liegt der hauptsächliche Ort der Lipidsynthese in Pflanzenzellen.

Plastiden vermehren sich ausschließlich durch **Teilung**. Wie bei Bakterien kommt es dabei zu einer Durchschnürung des Organells mithilfe einer zentralen, kontraktilen Ringzone. Sie enthält das Protein **FtsZ**, das in gleicher Funktion bei Bakterien vorkommt und nach Struktur und Sequenz ein Tubulinhomolog ist ( Abschn. 19.1.1). Plastiden besitzen eigene **plastidäre DNA** (ptDNA = ctDNA;  Abb. 1.76 und 4.11; s.  Abschn. 4.7). Hier ist aber nur ein Teil der in Plastiden vorkommenden Proteine codiert. Der Großteil der plastidären Proteine ist dagegen in der DNA des Zellkerns codiert, wird im Cytoplasma an freien Polysomen synthetisiert und muss durch die Plastidenhülle zum Zielort transportiert werden. Das geschieht mithilfe von Transitpeptiden am N-Terminus des Proteins. Dieses Signalpeptid fungiert wie eine Empfängeradresse und bindet an spezielle Transportkomplexe – in der äußeren Plastidenmembran TOC (engl. *translocon of the outer chloroplast membrane*) und in der inneren TIC (engl. *translocon of the inner chloroplast membrane*) ( Abb. 6.12). Beim Transport wird das Signalpeptid abgespalten, das reife Protein ist also kürzer als das an den cytoplasmatischen Ribosomen gebildete Vorläuferprotein. Proteine, die innerhalb der Plastiden in die Thylakoide gelangen müssen, besitzen noch ein zweites Signalpeptid, das dann auf ähnliche Weise bei der Passage durch die Thylakoidmembran abgespalten wird.

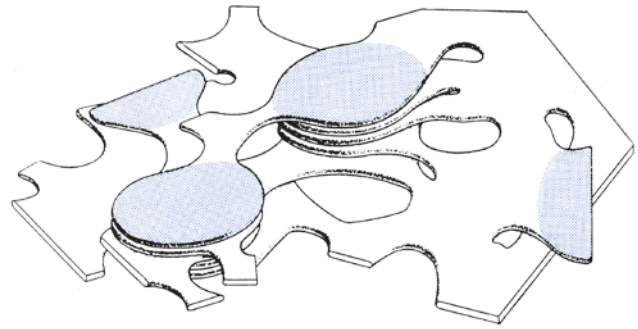
Untersuchungen zur Vererbung von Panaschierungen (Teile des Blatts sind weiß) zeigten, dass diese ausschließlich maternal (also von der Mutter) vererbt wer-

den, und bereits um 1910 schlossen Erwin Baur und Carl Correns auf eine eigene plastidäre Erbsubstanz (► Abschn. 7.2). Bei den von ihnen untersuchten Arten *Antirrhinum* und *Mirabilis* werden die Plastiden der männlichen Keimzelle bei der Befruchtung ausgeschlossen. Dies ist der Regelfall, es gibt jedoch auch Pflanzen (z. B. Pelargonien und Oenotheren), bei denen die Plastiden von beiden Elternteilen an die nächste Generation weitergegeben werden. Erst in den 1960er-Jahren konnte ptDNA nachgewiesen und schließlich als zirkuläre Doppelhelix isoliert und näher charakterisiert werden. Zwei japanischen Arbeitsgruppen gelang dann 1986 die erste vollständige Sequenzierung der ptDNA von Tabak (■ Abb. 4.11) und des Lebermooses *Marchantia*. Inzwischen sind die ptDNA-Sequenzen vieler weiterer Pflanzen sequenziert worden (► Abschn. 4.7). Aufgrund der zumeist maternalen Vererbung werden plastidäre Gene gerne für die molekulare Phylogenie eingesetzt. Je nach taxonomischer Ebene kommen hier stark konservierte (z. B. die große Untereinheit der Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase, Rubisco) oder eher variable Bereiche (z. B. der intergenische Spacer des *trnH*-Gens, das die tRNA für Phenylalanin codiert) zum Einsatz.

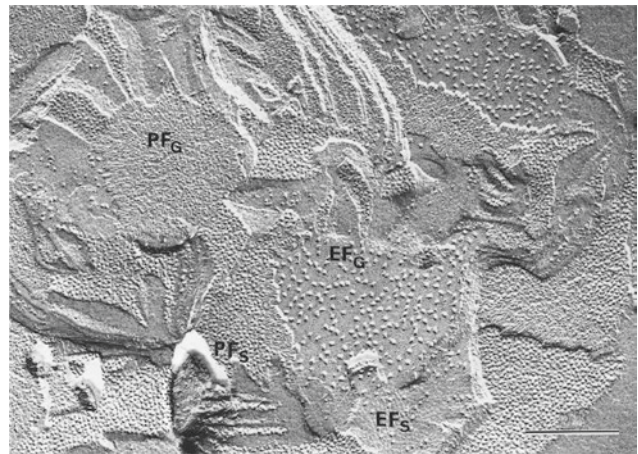
1.2.9.1 Feinbau von Chloroplasten, Chloroplastenformen

Chloroplasten sind die charakteristischen Organellen aller photoautotrophen Eukaryoten. Durch die Lichtreaktionen der Photosynthese (► Abschn. 14.3) wandeln sie Strahlungsenergie der Sonne in chemische Energie um und legen damit die energetische Basis für alle heterotrophen Lebensformen. Zugleich werden Kohlenstoff, Wasserstoff und Phosphor assimiliert, Nitrat und Sulfat reduziert sowie Sauerstoff aus Wasser freigesetzt. Der Sauerstoff in der Erdatmosphäre, eine Voraussetzung für die aerobe Energiegewinnung aus organischer Nahrung und die Bildung eines Ozonschildes in der oberen Erdatmosphäre, stammt fast ausschließlich aus der Photosynthese.

Die internen Membranen typischer Chloroplasten (■ Abb. 1.73), die **Thylakoide**, enthalten verschiedene Carotinoide und an Proteine gebundene Chlorophylle. Die Thylakoide sind nicht unmittelbar mit der inneren Hüllmembran des Organells verbunden. Das Innere der Thylakoiden stellt daher ein echtes Kompartiment dar. An den Thylakoiden laufen die Lichtreaktionen der Photosynthese ab. Die Thylakoide sind häufig lokal pfennigartig gestapelt. Die Stapel sind auch lichtmikroskopisch als dunkelgrüne Körnchen (**Grana** von lat. *granum* = das Korn) sichtbar. Diese Granathylakoide sind untereinander durch die Stromathylakoide verbunden (■ Abb. 1.73). Die Thylakoidmembran ist dicht mit Proteinen besetzt, die im Gefrierbruch elektronenmikroskopisch als Membranpartikel zu sehen sind (■ Abb. 1.74 und 14.34). Die präzise Anordnung



■ **Abb. 1.73** Grana- und Stromathylakoide sind keine gesonderten Kompartimente, sondern stellen ein räumliches Kontinuum mit zahlreichen Membranüberschiebungen dar. Grana blau. (Nach W. Wehrmeyer)



■ **Abb. 1.74** Thylakoidmembranen sind Träger von Proteinkomplexen, die an den Lichtreaktionen der Photosynthese beteiligt sind (vgl. ■ Abb. 14.34). Im Gefrierbruchpräparat (Chloroplast der Erbse) treten die Komplexe als Membranpartikel deutlich hervor. Die funktionellen Unterschiede der Grana- und Stromabereiche (G und S) sind auch im Partikelmuster ausgeprägt (Maßstab 0,3 µm). (Präparat und EM-Aufnahme: L.A. Staehelin)

dieser Proteinkomplexe erscheint beinahe kristallin, auch kommen sie nur auf einer Membranseite vor (■ Abb. 1.74). Diese streng regulierte Struktur ist notwendig, um den gerichteten Elektronenfluss während der photosynthetischen Lichtreaktion zu gewährleisten. Die Bildung von ATP erfolgt an plastidären ATP-Synthase-Komplexen (vgl. ■ Abb. 14.41), die auf Stromathylakoiden lokalisiert sind.

Die Thylakoide sind vom „Plasma der Plastiden“, dem **Stroma**, umgeben. Ähnlich wie das Cytoplasma von einem Cytoskelett dynamisch strukturiert wird, wird im Stroma ein Plastoskelett sichtbar, wenn man das plastidäre Teilungsprotein FtsZ in Fusion mit GFP überexprimiert (■ Abb. 1.75c). Ob dieses Skelett in dieser Form auch natürlicherweise vorkommt oder eine Manifestation der Überexpression darstellt, ist noch nicht geklärt. Neben den Enzymen für die Dunkelreak-

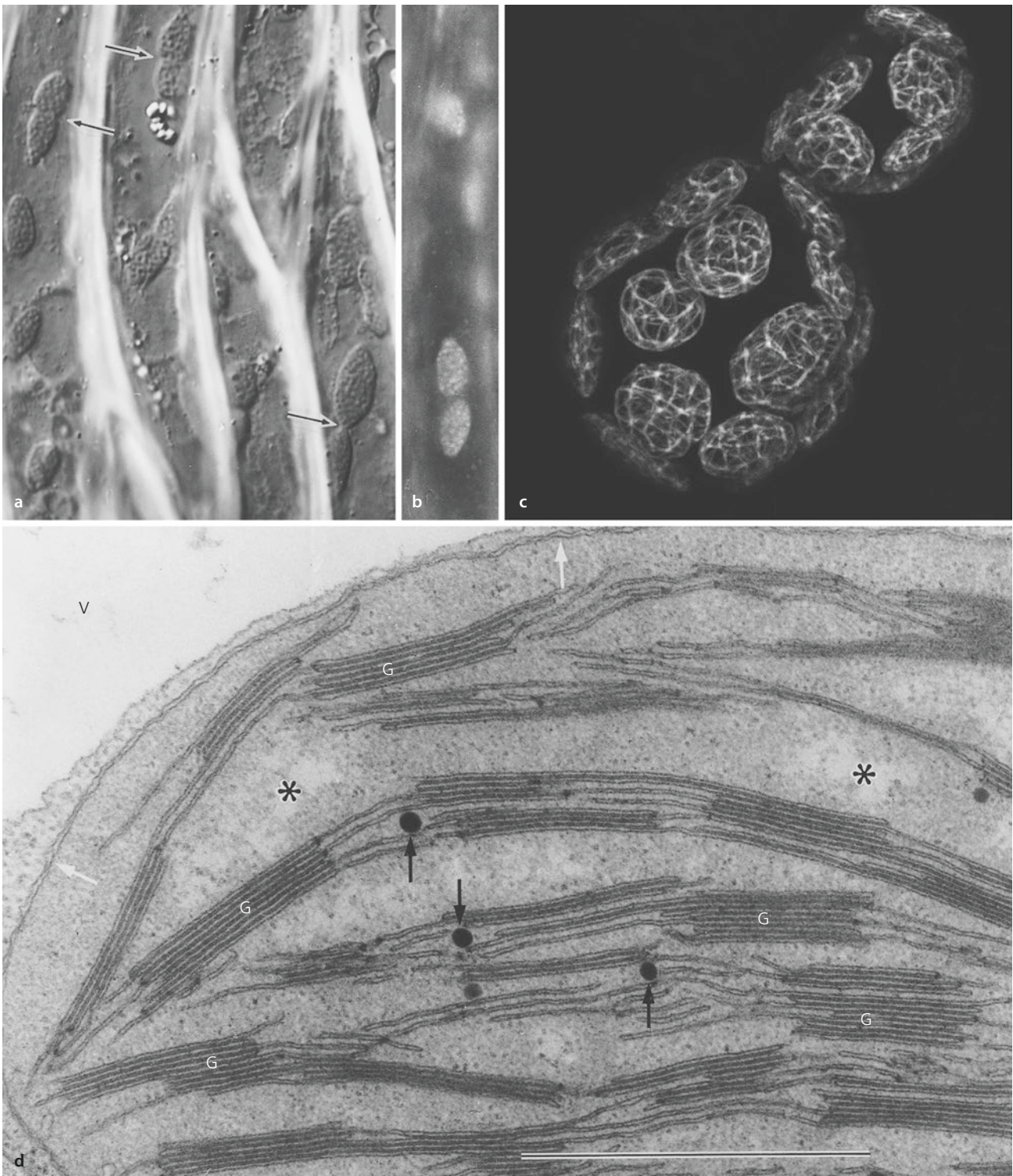
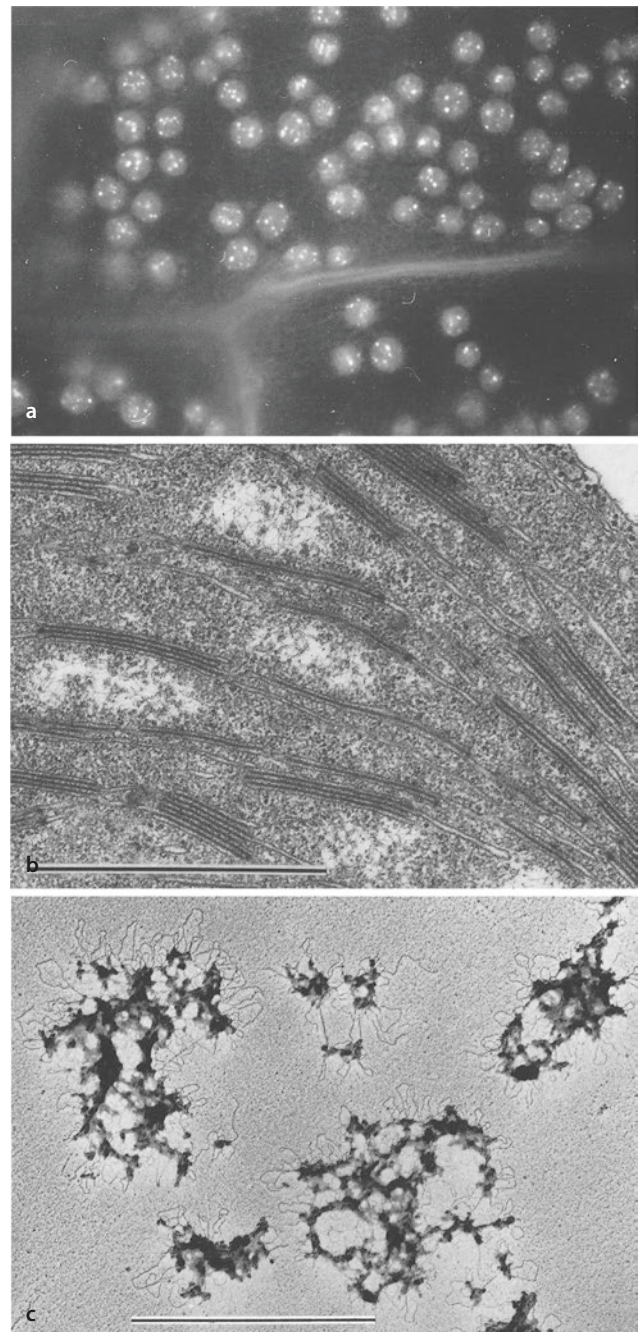


Abb. 1.75 Chloroplasten im Licht- und Elektronenmikroskop. **a, b** Granuläre Chloroplasten in lebenden Blättchenzellen des Quellmooses *Fontinalis antipyretica* (1230 ×). **a** Chloroplastenteilung durch mediane Einschnürung (Pfeile). **b** Chlorophyllfluoreszenz der Grana. **c** Plastoskelett in Chloroplasten des Blasenmützenmooses *Physcomitrella patens* (regenerierender Protoplast, lebend, FtsZ1 durch GFP fluoreszierend; ▶ Abschn. 1.1.5) (2050 ×). **d** Granulärer Chloroplast aus Laubblatt der Garten-Bohne im EM. Die zahlreichen Thylakoide sind als flache Doppelmembranen erkennbar; in den Grana (einige mit G bezeichnet) sind sie dicht aufeinandergestapelt; zwischen den Grana ungestapelte Stromathylakoide. Schwarze Pfeile: Plastoglobuli; aufgelockerte Bereiche der Stromamatrix (*) enthalten ptDNA (Nucleoide); weiße Pfeile: doppelte Plastidenhülle (Maßstab 1 µm). – G Grana, V Vakuole. (c CLSM-Aufnahme: J. Kiessling, R. Reski; d EM-Aufnahme: H. Falk)

tion der Photosynthese (► Abschn. 14.4) findet man im Stroma auch Stärkekörner (**transitorische Stärke**) sowie andere Speicherstrukturen wie Plastoglobuli als Lipidspeicher, gelegentlich sind auch Proteinkristalle vorhanden (z. B. des eisenspeichernden Proteins Phytoferritin). Als Träger des **Plastoms** befinden sich in der Stromamatrix auch mehrere bis viele Nucleoide, aufgelockerte Bereiche mit Ansammlungen von ptDNA-Molekülen (■ Abb. 1.76, ► Abschn. 4.7), sowie Ribosomen vom prokaryotischen 70S-Typ.

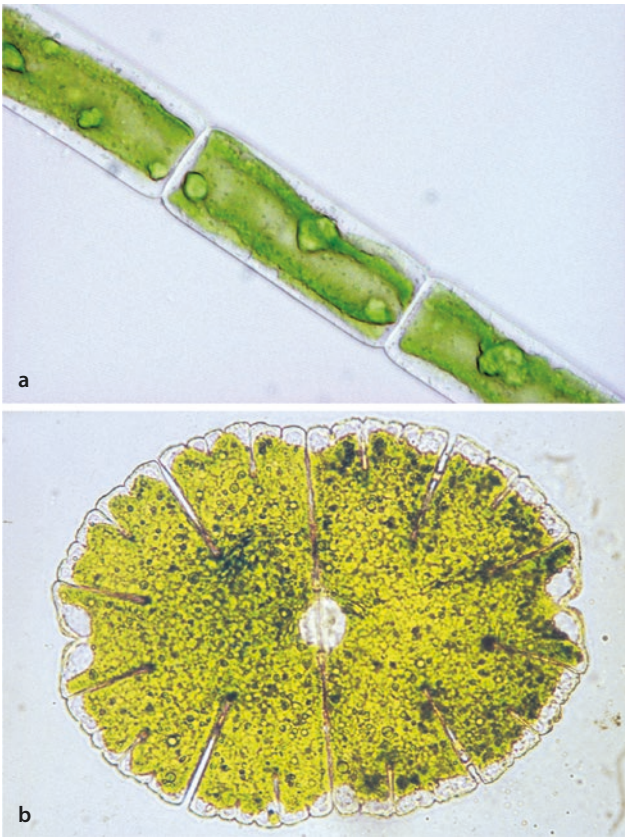
Von diesem üblichen Aufbau gibt es zahlreiche Abweichungen, besonders bei Algen. Das gilt unter anderem für die äußere Form des Organells. Während Laubblattchloroplasten linsenförmig sind, einen Durchmesser zwischen 4 und 10 μm haben und zu mehreren bis sehr vielen in den Zellen vorliegen, kommen bei manchen Grünalgen besonders große und mitunter eigenartig geformte **Megaplasten** vor, oft nur in Einzahl pro Zelle (■ Abb. 1.77). Die Chloroplasten vieler Algen und der Hornmoose enthalten scharf begrenzte Verdichtungen der Stromamatrix, die häufig von Stärkekörnern umgeben sind und nur wenige oder überhaupt keine Thylakoide enthalten. Diese Matrixbezirke werden als **Pyrenoide** bezeichnet (griech. *pyrén*, Kern). Hier finden sich besonders hohe Konzentrationen des Schlüsselenzyms der CO_2 -Fixierung, der Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (**Rubisco**). Dieses Enzym, ein Komplex aus je acht größeren und kleineren Untereinheiten, kann in grünem Blattgewebe oft über 60 % aller löslichen Proteine ausmachen und gilt als eines der häufigsten Proteine auf diesem Planeten (zur Funktion ► Abschn. 14.4.1).

Die übliche Gliederung in Grana- und Stromathylakoide kann auch fehlen, wie bei den granalosen Plastiden der Rotalgen. Bei den homogenen Chloroplasten mancher Algen durchziehen Zweier- oder Dreierstapel von Thylakoiden den gesamten Innenraum der Plastiden (■ Abb. 1.78). Bei den Plastiden der Rotalgen liegen die Thylakoide nicht nur einzeln vor, sondern sind mit **Phycobilisomen** ausgestattet, die in Gefrierbruchpräparaten als aus der Thylakoidfläche herausragende Proteinkomplexe sichtbar werden (■ Abb. 1.79b und 14.30a). Diese Lichtsammelkomplexe enthalten Phycobilin, ein Pigment, das grünes Licht absorbieren und die Anregungsenergie auf Chlorophyll übertragen kann. Dies erlaubt es den Rotalgen, das von den anderen Pflanzen nicht verwertete grüne Licht zu nutzen und dadurch in größere Wassertiefen vorzudringen. Der Phycobilingehalt ist auch für die rote Färbung der Rotalgen verantwortlich. Die Phycobilisomen enthalten neben einem Kern aus Allophycocyanin weitere, hoch geordnete Komplexe aus Pigmenten wie Phycocyaninen und rot gefärbten Phycoerythrin (■ Abb. 1.79c). Auch die photosynthetischen Membranen der prokaryotischen Cyanobakterien sind mit Phycobilisomen ausgestattet (■ Abb. 1.79a). Auch bei anderen Algengruppen kann das Chlorophyll von solchen akzessorischen Pigmenten begleitet sein, sodass die eigentlich grüne Färbung der Chloroplasten überdeckt wird. Beispiele sind die bräunlich gefärbten Phäoplasten der Braunalgen oder die gelben bis braunroten Plastiden der Dinoflagellaten und vieler Goldalgen (Chrysophyten).

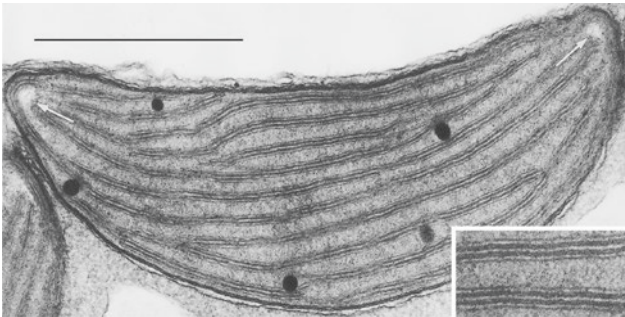


■ **Abb. 1.76** Plastidennucleoide. **a** Chloroplasten in Blattzellen der Wasserpest *Elodea canadensis* nach Fluoreszenzfärbung der ptDNA mit DAPI (4–5-Diamidino-2-phenylindol). Jeder Chloroplast enthält mehrere Nucleoide, jedes Nucleoid mehrere zirkuläre ptDNA-Moleküle (1000 \times). **b** Fünf Nucleoide als aufgelockerte Bereiche in der Stromamatrix eines Bohnenchloroplasten. **c** Aus Spinatchloroplasten isolierte Nucleoide; ptDNA bildet Schleifen um lockere Proteingerüste. (Maßstäbe in B, C 1 μm). (a Epifluoreszenzfoto: H. Dörle; b EM-Aufnahme: H. Falk; c Präparat und EM-Aufnahme: P. Hansmann)

Bei vielen begeißelten pflanzlichen Einzellern lässt sich ein durch besondere Carotinoide tiefrot gefärbter Augenfleck (das **Stigma**) beobachten, der einer dichten Ansammlung pigmentierter Lipidtröpfchen (Plastoglobuli) entspricht (■ Abb. 19.46a und 19.68a). Diese caroti-



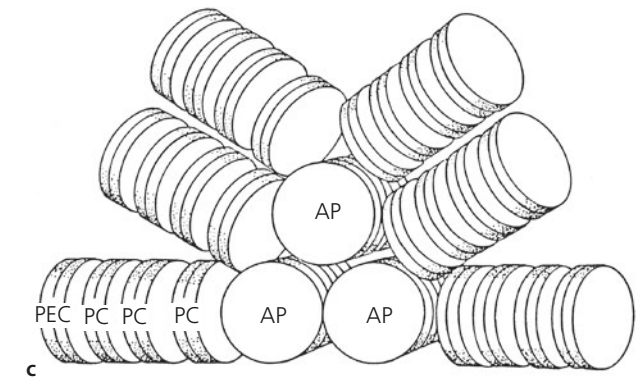
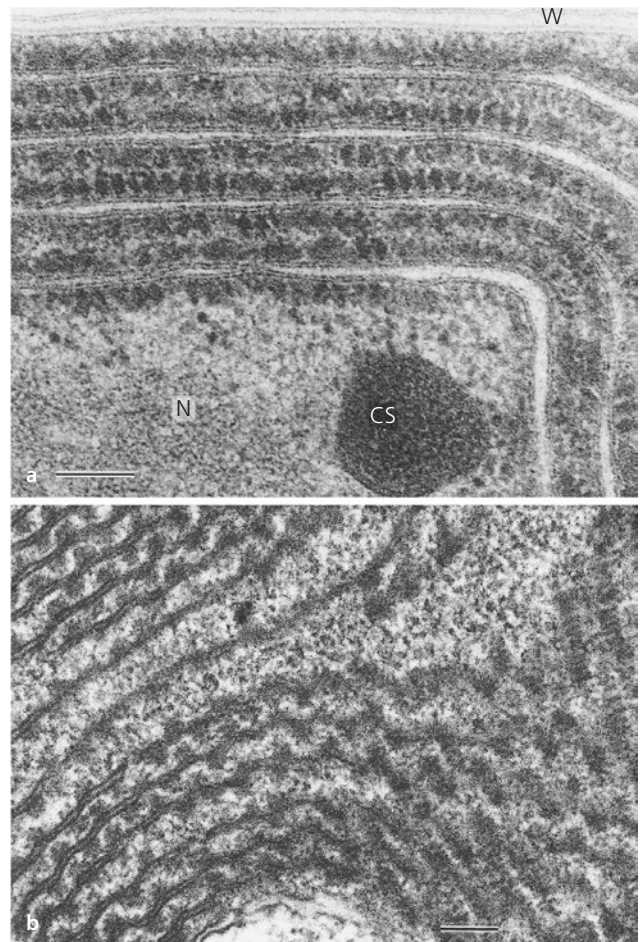
■ **Abb. 1.77** Megaplasten in Zellen der Alge *Mougeotia* mit Stärkeherden (Pyrenoiden) (a; 380 ×) und der Zieralge *Micrasterias denticulata* (b; 260 ×). Beide Arten gehören zu den Zygnemophyceae, einer Klasse der Grünalgen, aus denen die Landpflanzen hervorgingen



■ **Abb. 1.78** Homogener Chloroplast der Alge *Tribonema viride*, eine Xanthophyceae (vgl. ■ Abb. 19.47e). Die Thylakoide, zu je dreien gestapelt (Ausschnitt), durchziehen den gesamten Plastiden, Stromathylakoide werden nicht gebildet. Die ptDNA-haltigen Bereiche befinden sich peripher um das gesamte Organell herum (Pfeile) (Maßstab 1 µm). (EM-Aufnahme: H. Falk)

noidhaltigen Lipidtröpfchen sind häufig im Chloroplasten lokalisiert. Gelegentlich scheinen sie im Cytoplasma lokalisiert. Man vermutet jedoch, dass auch diese scheinbar cytoplasmatischen Plastoglobuli Rudimente einer im Laufe der Phylogenie stark reduzierten Form eines Plastiden darstellen.

Chloroplasten, aber auch andere Plastidenformen, können gelegentlich Ausläufer bilden. Diese **Stromuli** sind



■ **Abb. 1.79** Phycobilisomen. **a** Bei dem Cyanobakterium *Pseudanabaena persicina*. **b** Bei der Rotalge *Rhodella violacea*, rechts in Flächen-, links in Profilsicht (Maßstäbe in A, B 0,1 µm). **c** Molekulares Modell der halbkreis-scheibenförmigen Phycobilisomen aus Rotalgen mit Kernstruktur aus Allophycocyanin und davon ausstrahlenden Reihen von Phycocyanin und Phycoerythrocyanin. Zur Rolle der Phycobilisomen bei der Photosynthese vgl. ■ Abb. 14.41. – AP Allophycocyanin, CS Carboxysom, PC Phycocyanin, PEC Phycoerythrocyanin (vgl. ■ Abb. 19.3a), N DNA-haltiges Zentroplasma, W Zellwand. (EM-Aufnahmen: W. Wehrmeyer)

schon Ende des 19. Jahrhunderts beschrieben worden (■ Abb. 1.80a) und scheinen die Chloroplasten untereinander zu vernetzen. Das Phänomen wurde Ende des

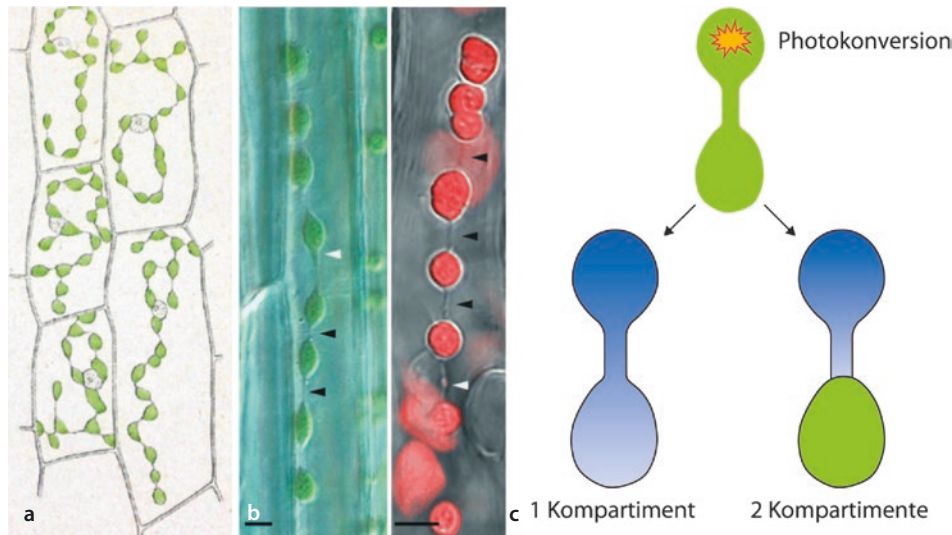


Abb. 1.80 Stromuli. **a** Erste Darstellung von Verbindungen zwischen Chloroplasten in Stammeparenchymzellen des Moosfarns *Selaginella kraussiana*. **b** Bestätigung von Haberlands Beobachtung mithilfe des Differenzialinterferenzkontrasts (links). Die Anregung der Chlorophyllfluoreszenz zeigt, dass die Stromuli frei von Chlorophyll sind (Maßstäbe 10 µm). **c** Die Annahme einer durch Stromuli vermittelten plastidären Kontinuität wurde mithilfe des photokonvertiblen fluoreszenten Proteins mEOS bei der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* widerlegt. Links: Wären die Plastiden tatsächlich durch Stromuli verbunden, sollte sich das in einem der Plastiden photokonvertierte mEOS, zu verfolgen mithilfe der roten Fluoreszenz, in den benachbarten Plastiden ausbreiten. Rechts: Beobachtet wurde, dass die Ausbreitung des photokonvertierten mEOS an der Grenze zum zweiten Plastiden innehält. Die beiden Plastiden bilden also zwei getrennte Kompartimente. (a aus Haberlandt 1969, b aus Schattat et al. 2015, c nach Schattat et al. 2015)

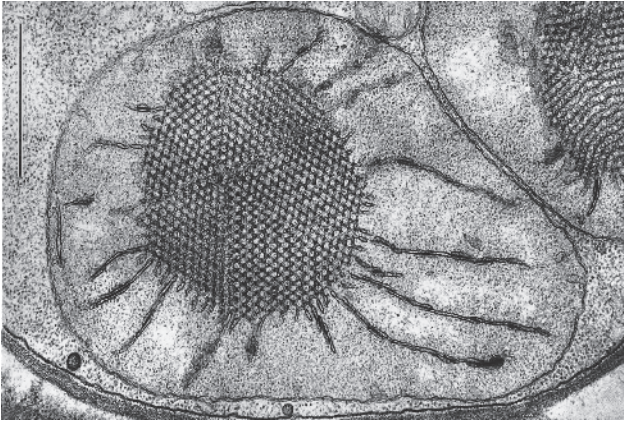
vergangenen Jahrhunderts wiederentdeckt und führte dann zu der Vorstellung, Chloroplasten seien untereinander zu einem einzigen Kompartiment verbunden. Diese Vorstellung verbreitete sich rasch, da damit auch einige molekulargenetische Beobachtungen erklärt werden konnten, etwa die, dass bei der genetischen Transformation von Plastiden das aufgenommene Transgen nach kurzer Zeit in allen Plastiden zu finden ist. Um die Annahme zu prüfen, wurde das mEOS-Protein, dessen grüne Fluoreszenz sich bei Belichtung mit UV-Licht nach rot ändert, in das Stroma eingeführt (► Exkurs 1.2). Dann wurde einer der scheinbar durch Stromuli verbundenen Chloroplasten lokal belichtet und dadurch ein Farbumschlag von grün nach rot erzeugt. Diese rote Fluoreszenz wanderte wie erwartet in den Stromulus ein, dieser war also in der Tat von Stroma gefüllt, doch stoppte die Ausbreitung der roten Fluoreszenz an der Grenze der benachbarten Plastiden. Es besteht also keine Kontinuität (► Abb. 1.80b). Auch wenn die Stromuli benachbarte Plastiden berühren, bleiben diese doch klar getrennte Kompartimente und bilden kein Kontinuum.

Da die Bildung von Chlorophyll aus dem Vorläufer Protochlorophyllid bei den meisten Blütenpflanzen lichtabhängig ist, beobachtet man Keimlingen, die (z. B. auf dem Weg zur Erdoberfläche) im Dunkeln wachsen, eine abgewandelte Form der Chloroplasten, die **Etioplasten**. Die Vorstufen des Chlorophylls sind zwar bereits gebildet, doch sie sind noch nicht in funktionellen Thylakoi-

den organisiert, sondern in einer kristallin anmutenden Struktur, dem Prolamellarkörper (► Abb. 1.81). Der Name Etioplast leitet sich von den etiolierten Keimlingen (von franz. *étioiler* = vergeilen) ab, in denen er zu finden ist. Da bei der Photosynthese Sauerstoff und freie Elektronen entstehen, die, wenn sie nicht effizient abgeleitet werden, zur Bildung von **reaktiven Sauerstoffspezies** (engl. *reactive oxygen species*, ROS) führen, ist es sehr wichtig, dass die Proteinkomplexe in der Thylakoidmembran mit Beginn der Photosynthese korrekt angeordnet sind. Da die Bildung von Membransystemen und die Assemblierung der Proteinkomplexe relativ langsam vonstatten gehen, werden diese Prozesse schon im Dunkeln vorbereitet. Auch die Carotinoide sind schon vorhanden, was den Etioplasten eine blassgelbe Färbung verleiht (dies ist der Grund, warum die Triebe dunkelgelagerter Kartoffeln gelb sind). Die Umwandlung des Etioplasten in den reifen Chloroplasten erfolgt dann sehr schnell. Wird umgekehrt grünen Teilen von Blütenpflanzen dauerhaft Licht entzogen, entstehen nach Abbau zunächst der Stroma- und später auch der Granathylakoide wieder Prolamellarkörper. Die Chloroplasten werden als wieder zu Etioplasten.

1.2.9.2 Andere Plastidenformen, Stärke

Plastiden zeigen eine beträchtliche strukturelle und funktionelle Variabilität, was mit der Funktion der jeweiligen Zelle, also ihrem Differenzierungszustand, zusammenhängt: In den vergleichsweise kleinen, teilungsaktiven



■ **Abb. 1.81** Etioplast(en) in junger Blattzelle der Garten-Bohne *Phaseolus vulgaris*. Vom parakristallinen Prolamellarkörper gehen einzelne Thylakoide aus; Plastoribosomen deutlich kleiner als Cytoribosomen; im Plastoplasma mehrere Nucleoide (Maßstab 1 μm). (EM-Aufnahme: M. Wrischer)

Zellen von Bildungsgeweben (Meristemen) finden sich vor allem **Proplastiden**, bei denen das innere Membransystem nur ansatzweise zu erkennen ist. Aus diesen Proplastiden gehen die anderen Plastidenformen hervor. Zum Teil können sich diese aber auch direkt ineinander umwandeln. Neben den schon erwähnten Etioplasten in etiolierten Keimlingen gibt es **Leukoplasten**. Diese sind typisch für nichtphotosynthetische Zellen, die nicht mehr wachsen und keine besondere Pigmentierung aufweisen. Sie übernehmen in der Regel Speicherfunktion und können beispielsweise als Elaioplasten vorliegen. Elaioplasten enthalten Öl in zahlreichen Plastoglobuli, während Proteinoplasten große Proteinkristalle beherbergen. Durch Verringerung der Chlorophyllbildung und Aktivierung der Carotinoidbiosynthese können sich Chloroplasten in **Chromoplasten** umwandeln. Dadurch entsteht die gelbe, orangerote oder rote Färbung vieler Blüten und Früchte. Für die menschliche Ernährung von zentraler Bedeutung ist die massive Stärkespeicherung durch die pigmentfreien **Amyloplasten** der Speichergewebe wie Getreidekaryopsen und Kartoffelknollen. Im Grunde lassen sich die verschiedenen Plastidenformen von den metabolisch sehr flexiblen Chloroplasten ableiten: Jeweils eine bestimmte metabolische Funktion wird aktiviert, andere Funktionen werden reduziert.

Stärke ist das Speicherpolysaccharid der grünen Pflanzen und vieler Algen. Das Polymer aus Glucoseresten ist das wichtigste Grundnahrungsmittel der Menschheit. Stärkekhaltige Weizen-, Reis-, Mais- und Kartoffelprodukte decken 70 % des Ernährungsbedarfs der Weltbevölkerung. Heterotrophe Organismen, also Pilze, Bakterien oder Tiere speichern stattdessen Glykogen, das in Flockenform im Cytoplasma abgelagert wird. Chemisch ist Stärke, wie auch Glykogen, ein

Polymer aus Glucoseeinheiten. Die Bausteine sind also die gleichen wie die der Cellulose. Im Gegensatz zur Cellulose sind die Glucosereste jedoch in α -Stellung verknüpft, sodass aufeinanderfolgende Glucoseringe zueinander abgeknickt sind, wodurch letztlich eine Schraube entsteht. Während **Amylose** aus Glucosebausteinen besteht, die α -1,4-glykosidisch miteinander verknüpft sind und unverzweigte Ketten bilden, treten bei **Amylopektin** neben den α -1,4- gelegentlich auch α -1,6-glykosidische Bindungen auf, die zu verzweigten Ketten führen. Glykogenmoleküle sind im Vergleich zum Amylopektin noch stärker verzweigt. Amylose und Amylopektin werden in Form sehr dichter, doppelbrechender **Stärkekörner** im Inneren der Plastiden oder bei manchen Algen in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft im Cytoplasma abgelagert. Form und Größe der Stärkekörner im Speichergewebe sind in der Regel artspezifisch (■ Abb. 1.82).

Die **Chromoplasten** speichern vor allem die lipophilen Carotinoide (Carotine und Xanthophylle; ■ Abb. 14.27). Diese können in verschiedenen Strukturen gespeichert werden (■ Abb. 1.83):

- Am häufigsten sind **globulöse Chromoplasten** mit zahlreichen Plastoglobuli, in denen die Pigmentmoleküle konzentriert sind.
- **Tubulöse Chromoplasten** enthalten parakristalline Bündel von Filamenten mit 20 nm Durchmesser, die in elektronenmikroskopischen Querschnittsbildern wie Röhren (Tubuli) aussehen. In Wirklichkeit handelt es sich aber um fädige Flüssigkristalle der unpolaren Pigmente, die von einem Mantel aus amphipolaren Strukturlipiden und Fibrillin (ein Strukturprotein von 32 kDa) umhüllt sind. Tubulöse Chromoplasten sind stark doppelbrechend (■ Abb. 1.83E) und oft bizarr geformt.
- Auch **kristallöse Chromoplasten**, in denen β -Carotin im Inneren flacher Membransäcke auskristallisiert, sind doppelbrechend.
- Eher selten sind **membranösen Chromoplasten**. Hier sind die Pigmentmoleküle in Membranen eingebaut, die sich von der inneren Hüllmembran ableiten und in Form vieler ineinandergeschachtelter Membranzisternen vorliegen. Diese Membranen enthalten nur sehr wenig Protein, sind also ein Beispiel für lipiddominierte Biomembranen.

Die internen Strukturen der Chromoplasten bilden sich durch molekulare Selbstorganisationsprozesse. Das letztlich beobachtete Muster hängt also von der Mischung der vorhandenen Molekülarten ab.

Chromoplasten entstehen in der Regel aus jungen Chloroplasten, was sich sehr schön an reifenden Paprika beobachten lässt, wo man alle Übergänge von grün bis rot verfolgen kann. Ähnlich wie Chloroplas-

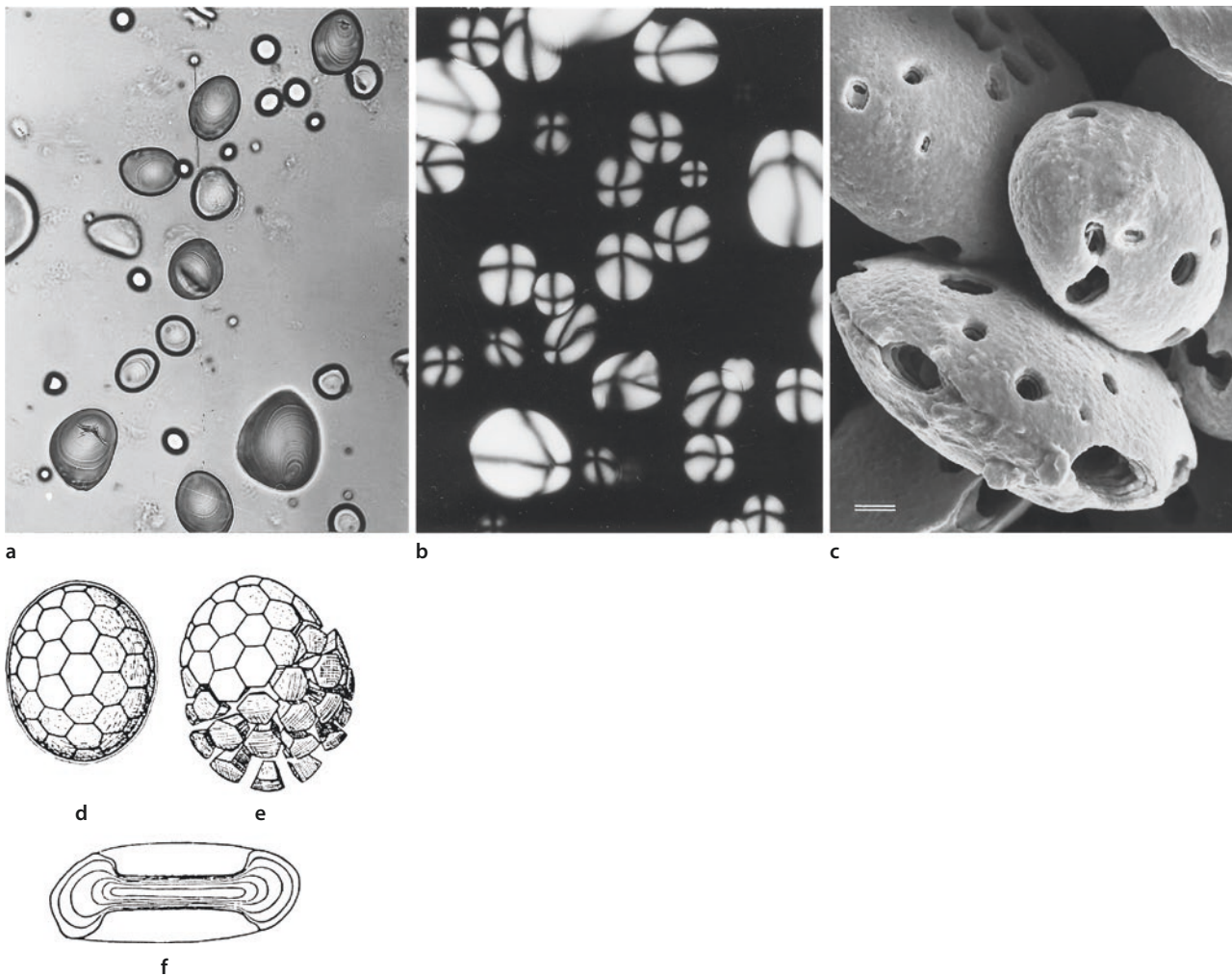
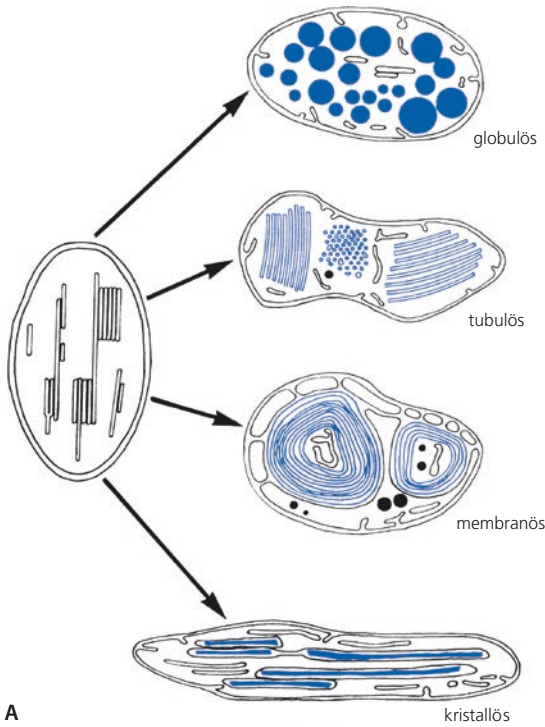


Abb. 1.82 Stärkekörner. **a, b** Kartoffelstärke (330 ×). **a** Schichtung, die auf rhythmischen Schwankungen der Synthesebedingungen beruht; Stärkekörner wachsen allgemein von einem Bildungszentrum aus (Hilum, bei Kartoffelstärke exzentrisch liegend) durch schichtweise Auflagerung neuen Materials. **b** Im Polarisationsmikroskop erweisen sich Stärkekörner als doppelbrechend, wobei wegen des konzentrischen Aufbaus charakteristische Sphäritenkreuze auftreten. **c** Stärke der Gerste nach Amylasebehandlung. Das Enzym baut Stärke ab, in den Abbaukuratzen ist die Schichtung sichtbar (Maßstab 1 µm). **d, e** Zusammengesetzte Stärkekörner des Hafers. **f** Hantelförmiges Stärkekorn mit deutlicher Schichtung in einem Amyloplasten aus dem Milchsaft der Wolfsmilch *Euphorbia milii*. (c Präparat: H.-C. Bartscherer, Raster-EM-Aufnahme: Fa. Kontron, JEOL-EM JSM-840; d-f nach D. von Denffer)

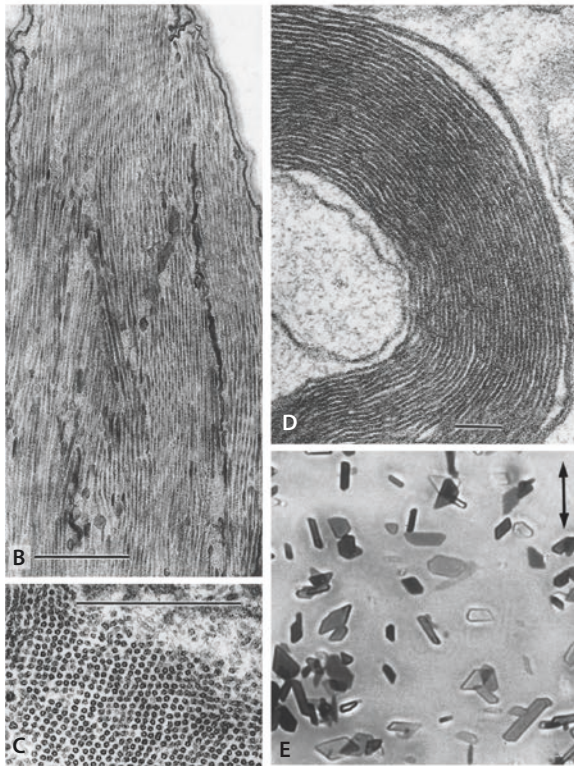
ten können sich Chromoplasten aber auch durch Teilung in Form einer Durchschnürung vermehren. Dabei wird die Zahl der Nucleoide pro Organell verringert, oft bis auf ein einziges. Zugleich werden die plastidären Ribosomen abgebaut und die ptDNAs durch Kompaktierung inaktiviert. Chromoplastenspezifische Proteine wie das Fibrillin der tubulösen Chromoplasten sind stets kerncodiert. Die Herbstlaubplastiden, die als **Gerontoplasten** bezeichnet werden (griech. *géron*, Greis), haben mit eigentlichen Chromoplasten nur wenig gemein (■ Tab. 1.4). Sie sind in den Zellen seneszenten Laubblätter zu finden, in denen ein massiver Stoffabbau, vor allem der Photosysteme und der chlorophyllbindenden Proteine, stattfindet.

1.2.10 Mitochondrien, Peroxisomen, Oleosomen – Werkzeuge der Energiewandlung

Während die Chloroplasten als Organellen der Photosynthese ein Alleinstellungsmerkmal von Pflanzenzellen darstellen, sind Mitochondrien, Peroxisomen und Oleosomen allen eukaryotischen Zellen gemeinsam. Ihre Funktion besteht darin, die letztlich aus der Photosynthese stammende chemische Energie in vielfältiger Form umzuwandeln: Zwei dieser Organellen, Mitochondrien und Peroxisomen, haben oxidative Funktion; die Oleosomen sind dagegen Strukturen der Energiespeicherung. Unter diesen Organellen sind die Mitochondrien am



A



■ **Abb. 1.83** Chromoplasten. **A** Typen der Feinstruktur; die Entwicklung geht häufig von (jungen) Chloroplasten aus. **B, C** Tubulöse Chromoplasten längs und quer (Hagebutte bzw. Blütenblatt von *Impatiens noli-tangere*; Maßstäbe 0,5 µm). **D** Membranöser Chromoplast von *Narcissus pseudonarcissus*, Ausschnitt (Maßstab 0,1 µm). **E** Isolierte kristallöse Chromoplasten aus der Wurzel der Kulturzmöhre im polarisierten Licht (750 ×); die plattenförmigen β-Carotinkristalle sind dichroitisch, d. h. die Lichtabsorption ist von der Lichtschwingungsrichtung (Tensor) abhängig. (a nach H. Mohr und P. Schopfer; E Präparat: D. Kühnen)

■ **Tab. 1.4** Chromoplasten und Gerontoplasten

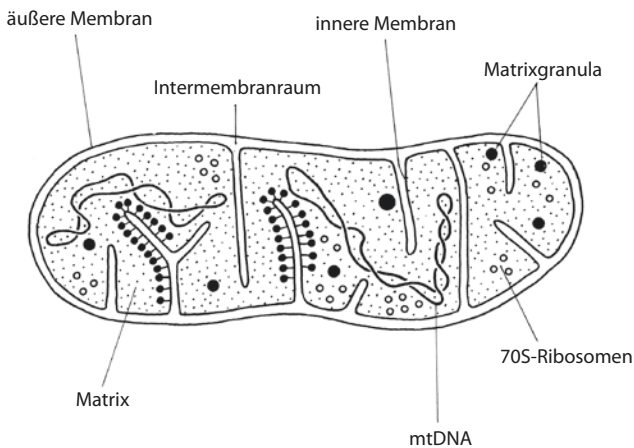
Eigenschaft	Chromoplasten	Gerontoplasten
Vorkommen	Blüten, Früchte	Herbstlaub
Funktion	Tieranlockung	–
Entstehung	durch Um- oder Aufbau aus verschiedenen Plastidentypen	durch Abbau aus Chloroplasten
Vermehrung (Teilung)	+	–
Feinbau (Typ)	globulös, tubulös, membranös, kristallös	ausschließlich globulös
Neusynthese von Carotinoiden	+	–
Zellstatus	nichtseneszent, anabolisch	seneszent, katabolisch

größten und weisen den komplexesten Aufbau auf (■ **Abb. 1.84**):

- Ähnlich wie die Plastiden besitzen Mitochondrien eine **doppelte Hülle** aus zwei unterschiedlichen Membranen, die zwischen sich ein nichtplasmatisches Kompartiment, den **Intermembranraum**, einschließen. Die innere Mitochondrienmembran bildet charakteristische Einfaltungen (**Cristae**), die an ihrer Basis gewöhnlich schmal, im Mitochondrieninneren aber verbreitert und schwach aufgebläht sind (■ **Abb. 1.85**). In manchen Fällen bilden die Cristae ein räumliches Netzwerk.
- Die innere Membran umgibt die **Matrix** mit **Ribosomen**, die aber kleiner sind als die Ribosomen des Cytoplasmas (70S statt 80S), und mehreren, oft sogar vielen, Ringen **mitochondrialer DNA (mtDNA)**. Im Gegensatz zur DNA im Kern ist die mtDNA nackt – weder gibt es Histone noch Nucleosomen. Diese Organisation, ebenso wie die kleinen Ribosomen, ähnelt den Verhältnissen bei Bakterien. Analog zu den Bakterien werden die mtDNA-Ringe auch als **Nucleoide** bezeichnet.
- An der Innenseite der inneren Mitochondrienmembran lassen sich im EM kleine, kornartige Strukturen erkennen. Diese früher Elementarpartikel genannten, perlschnurartig aufgereihten Strukturen gehören zum mitochondrialen **ATP-Synthase-Komplex** (■ **Abb. 1.86**). Der Komplex ist aus zwei Untereinheiten aufgebaut, dem F_0 - und dem F_1 -Teil. Der F_0 -Teil besteht aus einem Ring, der in die innere Mitochondrienmembran eingebettet ist, und einem Stiel, der den F_1 -Teil trägt. Beide bilden den Rotor, der

sich beim Durchtritt von Protonen vom Intermembranraum in die Matrix dreht. Der F_1 -Teil, der in die Matrix ragt, enthält drei katalytische Zentren, die, angetrieben durch die Rotation von F_0 , ATP synthetisieren. Jedes Mal, wenn ein Proton durch den Komplex tritt, dreht sich diese Struktur ähnlich wie ein Elektromotor, nur dass als Ergebnis ADP und Phosphat zu ATP verknüpft werden.

- Gelegentlich finden sich in der Matrix körnige Strukturen (Matrixgranula), in denen unter anderem Calcium- und Magnesiumionen gespeichert sind.



■ **Abb. 1.84** Schematischer Aufbau eines Mitochondrions. Innere und äußere Membran unterscheiden sich nicht nur in Gestaltung und Enzymausstattung, sondern auch in ihrer Lipidzusammensetzung (Cardiolipin/Cholesterin, vgl. ■ **Abb. 1.93**). Die innere Membran bildet durch Einfaltungen Cristae. An der Grenzfläche zwischen Cristae und Matrix sind die ATP-Synthase-Komplexe lokalisiert. (Nach H. Ziegler)

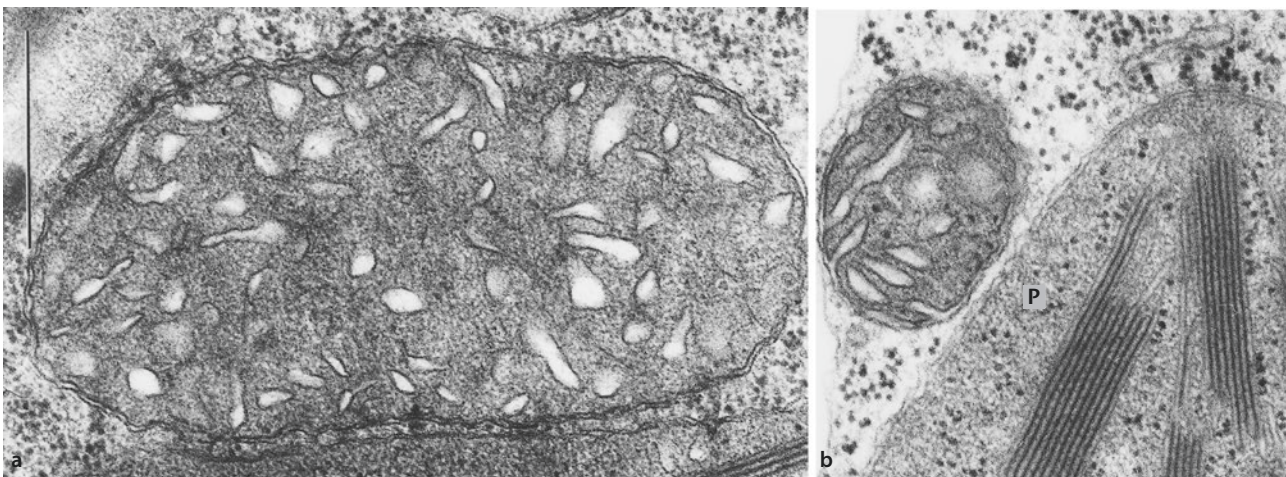
1.2.10.1 Gestaltdynamik und Vermehrung

In Dünnschnitten (■ **Abb. 1.85**) und nach Isolierung (■ **Abb. 1.4**) erscheinen Mitochondrien gewöhnlich als kugelige oder elliptische Körper von etwa 1 μm Durchmesser. In lebenden Zellen sind sie dagegen meist viel größer und können sich sogar verzweigen (■ **Abb. 1.87**).

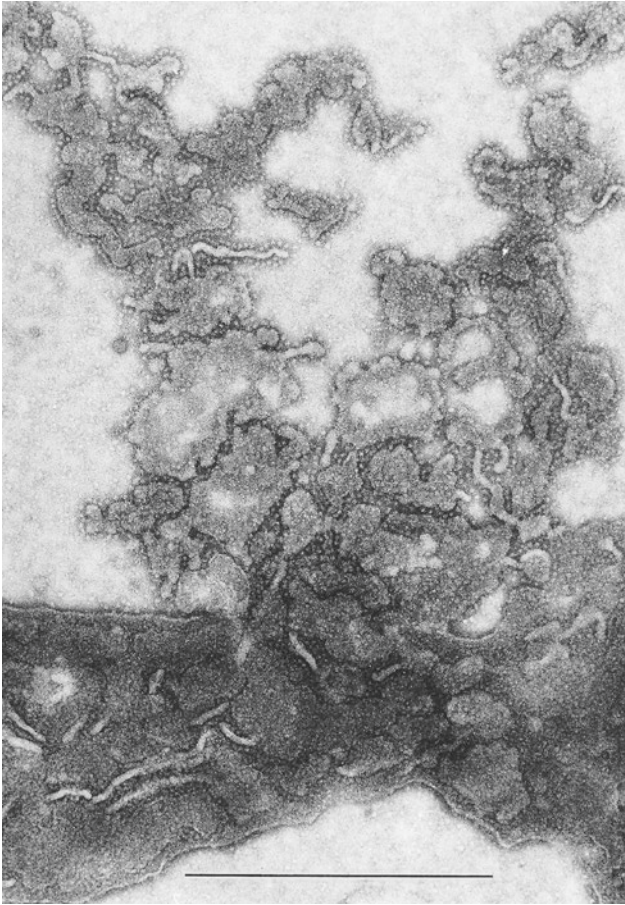
Mitochondrien besitzen die Fähigkeit, ihre Gestalt rasch zu verändern. Bei manchen Algen verschmelzen die zahlreichen Mitochondrien einer Zelle in bestimmten Entwicklungsstadien oder unter besonderen Außenbedingungen zu einem einzigen, netzförmigen Riesenmitochondrion, das später wieder in kleine Einzelmitochondrien zerfällt. Auch bei anderen Pflanzen sind Verschmelzen und Vielfachteilung von Mitochondrien nicht selten.

Mitochondrien können nur aus ihresgleichen entstehen. Ihre **Vermehrung** erfolgt vor allem in den Zellen der Bildungsgewebe (Meristeme). Dabei wird der Intermembranraum von einem Septum durchschnürt (■ **Abb. 1.88**). Die mtDNA scheint dabei nicht auf kontrollierte Weise verteilt zu werden. Durch die Vielzahl von mtDNA-Molekülen ist sichergestellt, dass Tochtermitochondrien genetische Information erhalten. Bei rascher Zellvermehrung bleibt die Enzymausstattung der Mitochondrien jedoch zunächst oft unvollständig, sodass die entstehenden Promitochondrien keine Zellatmung durchführen können.

Obwohl der Genbestand pflanzlicher mtDNAs sehr ähnlich ist, können die Ringe sehr unterschiedlich groß werden. Die Konturlänge kann 20 bis mehr als 800 μm betragen! Diese Unterschiede gehen auf einen zwischen verschiedenen Arten stark variierenden Anteil nichtcodierender Sequenzen zurück (► **Abschn. 4.8**). Sogar innerhalb einer Pflanze können die mtDNAs unterschiedlich groß sein, etwa weil bei intramolekularen Rekombinati-



■ **Abb. 1.85** Mitochondrien im EM. **a** In Laubblattzelle des Spinats; zahlreiche Anschnitte von Cristae sichtbar, deren nichtplasmatisches Inneres mit dem Intermembranraum der doppelten Membranhülle in Verbindung steht; die Verbindungen sind hier nicht sichtbar, da sie außerhalb der Schnittebene liegen. In **b** sind sie dagegen deutlich erkennbar. Die mitochondrialen Ribosomen sind (ebenso wie die Plastoribosomen im Chloroplasten P) deutlich kleiner als die Cytoribosomen. (Maßstab 0,5 μm .) (EM-Aufnahmen: H. Falk)



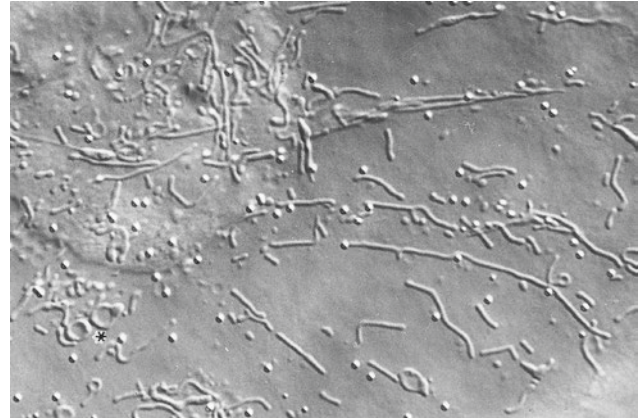
■ **Abb. 1.86** ATP-Synthase-Komplexe der Cristaemembranen sind im Negativkontrastpräparat dieses isolierten, aufgeplatzten Mitochondrions aus Kartoffelgewebe als helle F_1 -Partikel sichtbar. Sie sind durch zarte Stiele (Teile von F_0 , hier nicht zu sehen) mit den Membranen verbunden. Der molekulare Aufbau ist dem der ATP-Synthase von Chloroplasten ähnlich (vgl. ■ Abb. 14.41; Maßstab 0,5 μm .) (EM-Aufnahme: H. Falk)

onsvorgängen neben kompletten Kopien auch unvollständige auftreten (■ Abb. 4.13).

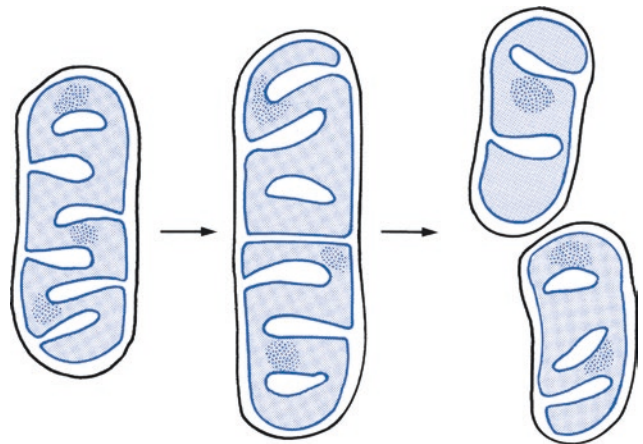
1.2.10.2 Membranen und Kompartimentierung der Mitochondrien

Mitochondrien sind vor allem die Organellen der **Zellatmung**. Ihre wichtigste Funktion ist die Bereitstellung von chemischer Energie in Form von ATP (► Abschn. 14.8.3).

ATP wird in einer energieverbrauchenden Reaktion aus ADP und Phosphat gewonnen. Ort dieser **oxidativen Phosphorylierung** sind die ATP-Synthase-Komplexe der inneren Mitochondrienmembran. Die erforderliche Energie entstammt einem in der inneren Mitochondrienmembran ablaufenden **Elektronentransport** von energiereichen Atmungssubstraten (Reduktionsäquivalente) zum Sauerstoff als Endelektronenakzeptor (**Atmungskette**,



■ **Abb. 1.87** Mitochondrien sind in der lebenden Zelle zu raschen Formveränderungen fähig. Meistens treten sie als faden- oder wurstförmige Gebilde auf, wie hier in der oberen (inneren) Zwiebelschuppenepidermis von *Allium cepa*. Neben zahlreichen „Spaghettimitochondrien“ auch kurze Mitochondrien sowie kugelige Oleosomen und mehrere Leukoplasten mit stärkeähnlichen Einschlüssen (z. B. bei *) erkennbar; links oben undeutlich der Zellkern (670 \times). (Interferenzkontrastaufnahme: W. Url)



■ **Abb. 1.88** Teilung eines Mitochondrions, Nucleoide punktiert

► Abschn. 14.8.3.3). Im Zusammenhang mit dem Elektronentransport entsteht ein Protonengradient an der inneren Mitochondrienmembran: Im Intermembranraum sinkt der pH-Wert. Zugleich bildet sich über der inneren Membran ein Membranpotenzial (innen negativ gegen außen). Protonengradient und Membranpotenzial werden über die rotierenden ATP-Synthase-Komplexe unter ATP-Bildung entladen. Dass beim Stoffwechsel nicht nur energiereiche Moleküle entstehen, sondern Energie auch in Form von Ionengradienten und Membranpotenzialen (also letztlich als elektrische Energie) gespeichert werden kann, ist die zentrale Aussage der **chemiosmotischen Theorie** von Peter Mitchell, die auch für die Photophosphorylierung in Chloroplasten gilt (► Abschn. 14.3.9 und 14.8.3.3). Ohne Energiegewinnung wären diese Formen der zellulären Energie gar nicht möglich.

Die Elektronen für den Elektronentransport der Atmungskette stammen vor allem aus der Oxidation von organischen Säuren im **Citratzyklus** (► Abschn. 14.8.3.2), **Abb. 19.73**). Fast alle Enzyme für diesen Zyklus sind in der Mitochondrienmatrix lokalisiert.

Außer an der Zellatmung sind Mitochondrien in Pflanzenzellen auch an mehreren anderen Stoffwechselaktivitäten beteiligt, so vor allem an der Photorespiration oder Lichtatmung (► Abschn. 14.4.6) und dem programmierten Zelltod (Apoptose, ► Abschn. 11.2.4).

Äußere und innere Mitochondrienmembran unterscheiden sich hinsichtlich ihrer integralen Proteine deutlich voneinander. Auch ihre Lipidausstattung ist verschieden. Während die äußere Membran das in Eukaryotenmembranen allgemein vorkommende Cholesterin enthält, ist die innere Membran frei davon und weist stattdessen einen erheblichen Gehalt an Cardiolipin auf, ein Phospholipid, das sonst nur in Bakterienmembranen vorkommt (**Abb. 1.92**). Dieser rätselhafte Befund lässt sich mithilfe der Endosymbiontentheorie erklären (► Abschn. 1.3).

Die Durchlässigkeit der äußeren Mitochondrienmembran ist hoch. Sie enthält röhrenförmige Komplexe integraler Membranproteine (**Porine**), die hydrophile Teilchen, sogar geladene Ionen mit einer Molekülmasse über 1 kDa passieren lassen (zum Vergleich: ATP hat eine Molekülmasse von 0,5 kDa). Dagegen ist die innere Hüllmembran sogar für Protonen undurchlässig, eine Voraussetzung für die Energetisierung der ATP-Synthasen. Um diese geringe Durchlässigkeit mit den Erfordernissen des Stoffaustauschs in Einklang zu bringen, ist die innere Mitomembran mit zahlreichen spezifischen Translokatoren ausgestattet. Diese gewährleisten z. B. den Austausch von ATP und ADP (**Adenylattranslokator**), von Phosphat sowie von organischen Säuren.

Nur ein kleiner Teil der mehr als 3000 mitochondrialen Proteine wird von mtDNA codiert. Die überwältigende Mehrheit der Proteine und sogar einige der tRNAs werden nicht in den Mitochondrien selbst synthetisiert, sondern müssen aus dem Cytoplasma importiert werden. Dies geschieht auf ähnliche Weise wie beim Import der plastidären Proteine (► Abschn. 1.2.9). Die kerncodierten mitochondrialen Proteine tragen an ihrem Aminoende ein **Transitpeptid**. Dieses dient gleichsam als Adresse für eine mitochondriale Lokalisierung und ermöglicht die posttranslationale Anheftung der Vorstufe an integrale **Translokator Komplexe** – in der äußeren Membran TOM (engl. *translocator of the outer membrane*), in der inneren TIM (engl. *translocator of the inner membrane*). Der Transit erfolgt an Stellen, an denen sich innere und äußere Hüllmembran vorübergehend berühren. Hat das Protein seinen Funktionsort erreicht, wird das Transitpeptid abgespalten, womit die endgültige Konformation und Aktivität des Proteins hergestellt wird (► Abschn. 6.5).

1.2.10.3 Peroxisomen

Bei den früher als Microbodies bezeichneten **Peroxisomen** handelt es sich um etwa 0,3–1,5 µm große Vesikel mit dichtem Inhalt, die mithilfe der Elektronenmikroskopie entdeckt wurden. Peroxisomen vollbringen spezielle Stoffwechselleistungen und enthalten charakteristische Enzyme in hohen Konzentrationen. Besonders häufig bewerkstelligen sie oxidative Stoffumwandlungen, bei denen als Nebenprodukt das Zellgift Wasserstoffperoxid (H_2O_2) entsteht, worauf ihr Name zurückgeht. Wasserstoffperoxid wird von dem Enzym Katalase in Wasser und Sauerstoff gespalten und damit entgiftet. Während Peroxisomen in Tierzellen vor allem katabolisch aktiv sind, also am Abbau von Stoffen beteiligt sind, spielen Peroxisomen in Pflanzenzellen auch eine wichtige Rolle für die Synthese, etwa bei der Bildung des zentralen pflanzlichen Stresshormons Jasmonsäure, das im Peroxisom durch mehrere β -Oxidationen aus plastidären Vorstufen gebildet wird. Bei Pflanzen kommen die Peroxisomen in zwei auch morphologisch unterscheidbaren Formen vor: In photosynthetisch aktiven Zellen finden sich die **Blattperoxisomen** (**Abb. 1.89a**), die vor allem für die Entgiftung des bei der Photorespiration entstehenden Phosphoglykolats wichtig sind (► Abschn. 14.4.6). Bei der Keimung ölspeichernder Samen sind dagegen **Glyoxysomen** von Bedeutung, die bei der Mobilisierung von Fettreserven eine entscheidende Rolle spielen (► Abschn. 14.10). Der enge Zusammenhang der Peroxisomen mit dem oxidativen Stoffwechsel von Plastiden und Mitochondrien zeigt sich auch dadurch, dass die Peroxisomen oft an diese Organellen angelagert sind. Vor wenigen Jahren gelang es sogar, fingerartige Ausstülpungen der Peroxisomenhülle sichtbar zu machen, die als Peroxuli bezeichnet werden (**Abb. 1.89b**).

Während man lange annahm, dass Peroxisomen nur aus ihresgleichen hervorgehen, mehren sich inzwischen die Hinweise, dass sich ihre Membran vom endoplasmatischen Reticulum ableitet. Im Gegensatz zu Mitochondrien und Plastiden enthalten Peroxisomen keine Nucleinsäuren. Alle in den Peroxisomen aktiven Enzyme werden also an freien Polysomen des Cytoplasmas synthetisiert und danach importiert. Ähnlich wie für den Import in Plastiden und Mitochondrien tragen solche Proteine ein Transitpeptid, das die Bindung an und den Transport durch die Membran des Peroxisoms vermittelt und danach abgespalten wird (► Abschn. 1.2.9 und 1.2.10.2).

1.2.10.4 Oleosomen

Oleosomen sind vor allem in fettreichen Samen zu finden und dienen der Speicherung von Fetten, als Triacylglycerinen: Als Trägerstruktur dient Glycerin, ein C_3 -Körper mit drei Hydroxylgruppen, die mit jeweils einer Fettsäure verestert werden. Verglichen mit Kohlen-

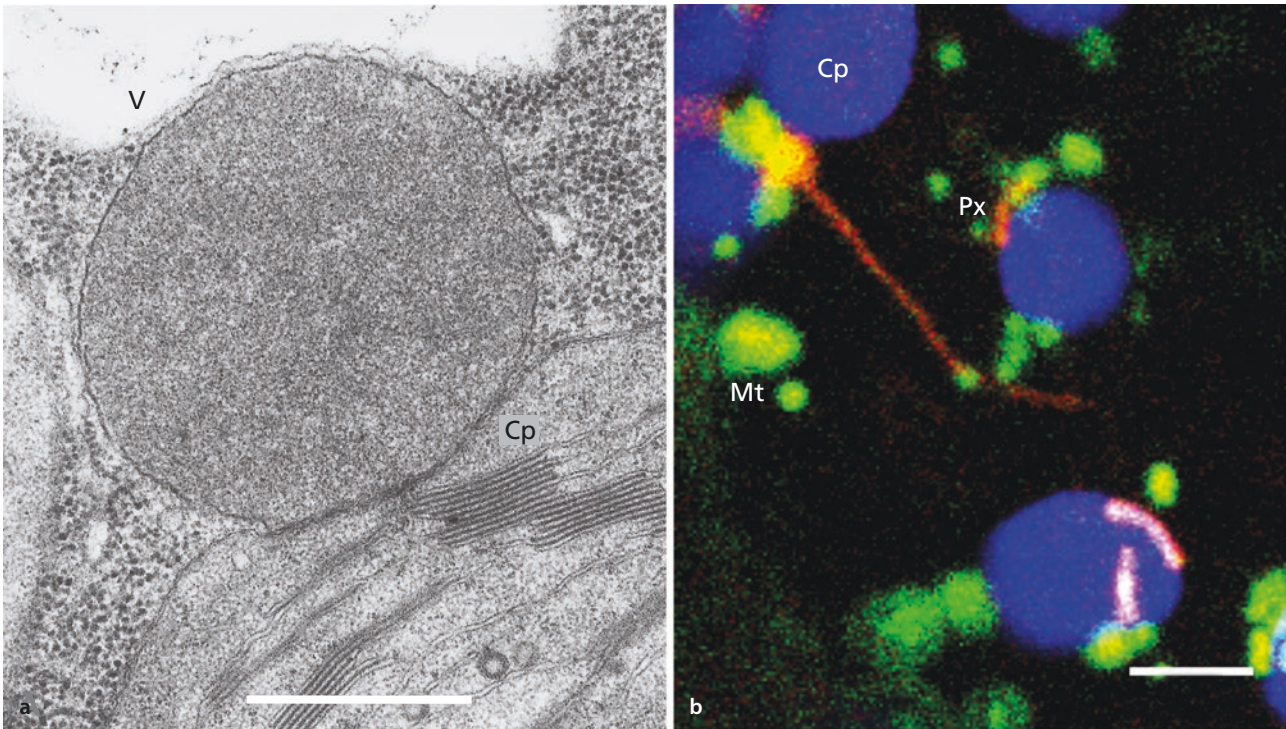


Abb. 1.89 Peroxisomen. **a** Blattperoxisom des Spinats, eng angelagert an einen Chloroplasten (mit Grana); im Cytoplasma zahlreiche Ribosomen. **b** Peroxisomen im Blatt von *Arabidopsis* mit elongiertem Peroxulus, im Verbund mit Chloroplasten und Mitochondrien. (Maßstäbe 5 μm .) – Cp Chloroplast, Mt Mitochondrium, Px Peroxulus, V Vakuole. (a EM-Aufnahme: H. Falk, b Fluoreszenzaufnahme: J. Mathur)

hydraten lassen sich mit Fetten auf demselben Raum deutlich größere Energiemengen speichern (anders als bei den sehr sauerstoffreichen Zuckern, aus denen Kohlenhydrate aufgebaut sind, liegt der Kohlenstoff bei den Speicherfetten in fast vollständig reduzierter Form vor). Daher nutzen Pflanzen die Fettspeicherung vor allem dann, wenn auf begrenztem Raum viel Energie vorrätig gehalten werden soll. Die Speicherung pflanzlicher Öle in den Speicherkeimblättern von Samen trägt entscheidend zur menschlichen Ernährung bei. Daher ist die Untersuchung von Oleosomen für die Lebensmittelindustrie von großer Bedeutung.

Als extrem lipophile Moleküle müssten sich die im ER synthetisierten Speicherfette eigentlich im Cytoplasma abscheiden und zu einem großen Öltropfen fusionieren. Da ein solcher Öltropfen ein sehr ungünstiges Verhältnis von Oberfläche zu Volumen hätte, würde die Mobilisierung der Speicherfette dadurch weitgehend unmöglich. Die Speicherung in zahlreichen, weitaus kleineren Oleosomen erlaubt eine wirksamere Mobilisierung mithilfe der Glyoxysomen, die aktivierte C_2 -Körper an den Citratzyklus der Mitochondrien weitergeben. Aus diesem Grund findet man die Oleosomen, Glyoxysomen und Mitochondrien (als „Endverbraucher“) häufig in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander.

Wie wird verhindert, dass die Speicherfette im Cytoplasma in Form kleiner Tröpfchen voneinander getrennt

bleiben (also letztlich als Emulsion vorliegen)? Die Verknüpfung der (aus dem Plastiden stammenden) Fettsäuren mit Glycerin findet in der Membran des ER statt (Abb. 1.90). Die entstehenden Triacylglycerine sind stark lipophil und sammeln sich daher im lipophilen Raum zwischen den beiden Phospholipidschichten, sodass sich die ER-Membran verdickt und ausbeult, bis sich eine Knospe bildet, die sich schließlich abschnürt. Gleichzeitig werden amphiphile Proteine gebildet, die Oleosine, die in die äußere, sich ausbeulende Schicht der ER-Membran integriert werden und so dem Oleosom eine hydrophile äußere Oberfläche verleihen. Das reife Oleosom zeichnet sich also nicht wie andere Kompartimente durch eine Doppelmembran aus, sondern es besitzt eine einfache Phospholipidschicht, in die Oleosine integriert sind. Die Begrenzung eines Oleosoms ist also eine Monolayerstruktur.

Die Oleosine sind – analog zu den Phospholipiden – amphiphile Moleküle. Die hydrophile Seite ist nach außen, zum Cytoplasma hin, gewandt, während die lipophile Seite ins Innere des Oleosoms ragt. Als biologische Emulgatoren sind die Oleosine für die Lebensmittelindustrie interessant, weil sich damit fett- oder öltreiche Nahrungsmittel zu homogenen Emulsionen verarbeiten lassen. Vor allem die Oleosine der Sojabohne werden in diesem Zusammenhang biotechnologisch genutzt.

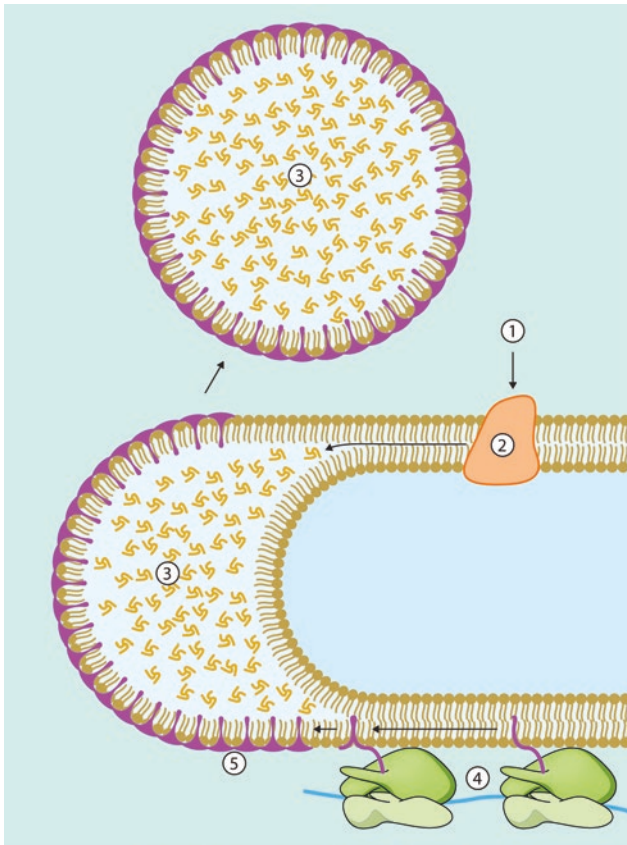


Abb. 1.90 Entstehung der Oleosomen. Durch CoA aktivierte Acylreste (die von Chloroplasten stammen) (1) werden in der Membran des rauen ER mit Glycerin verestert (2) und dann als lipophile Speicherlipide im ebenfalls lipophilen Zwischenraum zwischen den beiden Phospholipidschichten abgelagert (3), wodurch sich die ER-Membran verdickt. Gleichzeitig synthetisieren die Ribosomen (4) das amphiphile Protein Oleosin (5), das in die äußere einfache Phospholipidschicht (Monolayer) integriert wird. Durch die Speicherlipide entsteht eine Ausbeulung, die schließlich als reifes Oleosom abgeschnürt wird. Dieses besitzt also nur eine einfache Phospholipidschicht mit eingelagerten Oleosinen und enthält im Inneren die lipophilen Speicherlipide

1.3 Evolutionäre Entstehung der Pflanzenzelle

1.3.1 Von präbiotischen Molekülen bis zur ersten Zelle

Wie am Anfang des Kapitels dargestellt, war die Widerlegung der Urzeugung (Abiogenese) ein wichtiger Schritt bei der Entwicklung einer modernen Zellbiologie (**Zelltheorie**, ► Abschn. 1.2.2). Zellen können dieser Auffassung nach nur von anderen Zellen abstammen (Virchows „*omnis cellula e cellula*“) und die Zelle wird damit zur kleinsten Einheit, die wir als lebendig bezeichnen können. Obwohl Leben also in der Jetztzeit nur über Zellen weitergegeben werden kann, muss irgendwann

einmal die erste Zelle aus unbelebten Bestandteilen entstanden sein. Da es von diesem Vorgang, der vermutlich mehr als 3,5 Mrd. Jahre vor unserer Zeit stattgefunden hat, keine Zeugen gibt, lässt sich die Urzeugung der Zelle nur über mehr oder minder plausible, ihrem Wesen nach aber spekulative, Arbeitshypothesen nachvollziehen. Auch wenn sich die Lebensentstehung in ihrer Ganzheit zum gegenwärtigen Zeitpunkt (noch) nicht im Labor wiederholen lässt, können doch einzelne der aus diesen Arbeitshypothesen abgeleiteten Aussagen experimentell überprüft und bestätigt werden. Als wissenschaftlicher Zugang zum schwierigen Problem der Lebensentstehung bleibt also derzeit nur der Weg, eine schlüssige Geschichte zu erzählen und einzelne Etappen dieser Geschichte im Experiment nachzustellen.

Wenn ein Phänomen in seiner Komplexität und Ganzheit schwer zu untersuchen ist, geht die Biologie häufig den Weg, diese Komplexität auf einzelne Fragen herunterzubrechen und diese isoliert voneinander zu betrachten (**Reduktionismus**). Dieses Vorgehen wurde und wird auch für das Problem der Lebensentstehung erfolgreich angewendet. Es lassen sich dabei folgende Fragen herauslösen:

- **Bausteine des Lebens.** Leben hängt eng mit komplexen Makromolekülen zusammen, die aus wenigen, gleichartigen Bausteinen unter Abspaltung von Wasser durch Kondensation zu langen Ketten (DNA, RNA, Protein) zusammengefügt werden. Wie sind diese Bausteine ohne die Gegenwart von Zellen entstanden?
- **Kontrolle chemischer Bindungen.** Um zu einer langen Kette verknüpft werden zu können, müssen die Bausteine nicht nur aufeinandertreffen, sondern unter Überwindung einer Aktivierungsenergie miteinander kovalente Bindungen eingehen. In einer Zelle werden diese Aufgaben durch gezielte Zusammenlagerung (etwa mithilfe der Ribosomen als Orte der Peptidsynthese) und spezifische Enzyme gelöst. Wie wurde in einer Welt vor Ribosomen und Enzymen gewährleistet, dass diese molekularen Begegnungen in hinreichender Häufigkeit stattfinden, und wie wurde dann unter Überwindung einer Aktivierungsenergie eine Bindung geknüpft?
- **Kompartimentierung.** Eine Zelle muss einen chemisch abweichenden Binnenraum von einer in der Regel sehr dünnen wässrigen Lösung abtrennen. Diese Aufgabe wird in der heutigen Zelle von Biomembranen übernommen. Wie konnten sich vor Entstehung der Zelle überhaupt biologisch relevante Moleküle lokal anreichern und die Konzentrationen erhalten bleiben?
- **Selbstorganisation und Vererbung.** Eine Zelle ist in der Lage, ihre Eigenart gegen zufällige Schwankungen der Umgebung zu behaupten und diese Eigen-

schaften an ihre Tochterzellen weiterzugeben (Vererbung). Wie lässt sich erklären, dass sich mehr oder minder kontrollierte Zustände auf abiotischem Wege von selbst einstellen (Homöostase) und dass diese Fähigkeit zur Homöostase nach Massenzunahme (Wachstum) an die Tochtersysteme weitergegeben werden kann?

1.3.1.1 Bausteine des Lebens

Die Synthese der „typischen“ organischen Verbindung Harnstoff aus den anorganischen Molekülen Cyanat und Ammoniumchlorid durch Friedrich Wöhler (1828) gilt als Meilenstein bei der Entwicklung der Organischen Chemie. Auch die chemischen Bausteine des Lebens – Nucleotide, Aminosäuren, ATP, Lipide, organische Säuren und Zucker – müssen irgendwann einmal aus einfachen Vorläufern wie Ammoniak, Kohlendioxid oder Methan entstanden sein, damit „Leben“ überhaupt möglich wurde. Durch die in der Frühzeit der Erdgeschichte deutlich höhere Temperatur lässt sich zwar leicht verstehen, dass für die entsprechenden chemischen Reaktionen genügend Energie vorhanden war, unter den gegenwärtigen Bedingungen würden solche Biomoleküle bei hohen Temperaturen allerdings sofort wieder oxidiert, sie wären also nicht stabil. In der Frühzeit der Erdgeschichte war die Atmosphäre jedoch **reduzierend** – nennenswerte Mengen an Sauerstoff gab es noch nicht (seine Konzentration in der Atmosphäre ist erst infolge der photosynthetischen Wasserspaltung auf die heutigen 20 % angestiegen). Inspiriert durch die Theorien des sowjetischen Biochemikers Oparin und des britischen Genetikers und Evolutionstheoretikers Haldane versuchte **Stanley Miller** (1952) in einem bahnbrechenden Experiment die reduzierenden Bedingungen auf der Urerde nachzustellen. Aus einfachen Vorläufern wie Wasser, Methan, Ammoniak, Wasserstoff und Kohlenmonoxid bildeten sich unter dem Einfluss erhöhter Temperaturen und elektrischer Entladungen (womit Gewitter auf der Urerde simuliert werden sollten) zahlreiche Biomoleküle, darunter mehrere Aminosäuren wie Glycin, Alanin, Glutamin- und Asparaginsäure, aber auch Harnstoff, Acetat und organische Säuren. Das Experiment wurde unter zahlreichen Abwandlungen (etwa Hinzufügen von Schwefelwasserstoff, Kohlendioxid, UV-Licht oder Stickstoff) wiederholt, wobei weitere wichtige Bausteine des Lebens wie Zucker, Desoxyribose, Ribose, organische Basen (Adenin) und sogar ATP gefunden wurden. Vor Kurzem wieder aufgetauchte und dann analysierte Proben aus dem Nachlass von Miller zeigten, dass noch zahlreiche weitere Aminosäuren, darunter auch nichtproteinogene (sie kommen nicht in Proteinen vor), auf diese Weise entstanden waren. Die Frage, wie die chemischen Bausteine von Biomolekülen auf rein chemischem Wege, also ohne die

Gegenwart von Zellen, gebildet werden können, ist durch das Miller-Experiment also schlüssig beantwortet. Ein weiterer Hinweis stammt aus Untersuchungen, bei denen man evolutionär alte Proteine vergleichend untersucht hat. Hier zeigte sich, dass vor allem die Aminosäuren, die auf präbiotischem Wege leicht entstehen, überrepräsentiert sind.

Es sei an dieser Stelle aber nicht verschwiegen, dass das Miller-Experiment immer zu Racematen führt – Gemischen, in denen bei chiralen Molekülen beide Händigkeiten (**Enantiomere**) gleich häufig sind. Bei „echten“ Biomolekülen wird dagegen immer bevorzugt eines der Enantiomere gebildet. So sind alle Proteine aus den L-Formen der Aminosäuren aufgebaut. Beide Enantiomere weisen dieselben physikalischen Eigenschaften auf, sind also unter anderem energetisch gleich. Sie unterscheiden sich jedoch in ihrer Wechselwirkung mit anderen chiralen Molekülen, worauf ihre unterschiedlichen physiologischen Wirkungen zurückgehen. Die Tatsache, dass alle Proteine aus L-Aminosäuren aufgebaut werden, deutet also an, dass sie sich historisch von einem oder wenigen primären Peptidbindungen aus L-Aminosäuren ableiten. Wenn man, so wie Miller, die Bildung chemischer Bausteine in Lösung untersucht, spielt Chiralität keine Rolle. Erst wenn die Bausteine (an einer ebenfalls chiralen) Oberfläche verknüpft werden, tritt sie zutage und führt zu einer asymmetrischen Verteilung der beiden Enantiomere.

1.3.1.2 Kontrolle chemischer Bindungen

In der Zelle wird das Knüpfen chemischer Bindungen durch Enzyme erleichtert. Über elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen mit den Aminosäureresten des aktiven Zentrums werden die Substrate in eine günstige räumliche Anordnung gebracht, sodass alte Bindungen gelöst und/oder neue geknüpft werden können. Die Katalyse beruht also auf der selektiven Wechselwirkung von chemischen Strukturen auf der Oberfläche des Substrats mit funktionellen Gruppen im aktiven Zentrum des Enzyms. Die ursprüngliche, von Oparin und unabhängig davon von Haldane formulierte Idee ging davon aus, dass sich die präbiotischen Bausteine im Meer zu einer sogenannten Ursuppe angereichert hatten. Laut dieser Hypothese lagen die Moleküle in der Ursuppe in so hohen Konzentrationen vor, dass Kondensationen und damit die Bildung von Ketten sehr wahrscheinlich waren. Die Ursuppentheorie ist in der Öffentlichkeit nach wie vor verbreitet, doch ist sie wissenschaftlich nicht haltbar. Die Ursuppe war vermutlich eine sehr dünne Brühe und die Wahrscheinlichkeit, dass die Bausteine von Makromolekülen durch Diffusion aufeinandergetroffen sind und sich dann auch noch verknüpft haben, dürfte sehr gering gewesen sein.

Nach der Biofilmttheorie, an deren Entwicklung der Chemiker Günter Wächtershäuser federführend mitgewirkt hat, hat die Entstehung präbiotischer Makromolekülen an Oberflächen aus Pyrit (mineralischen Eisen-Schwefel-Komplexen) stattgefunden, die aufgrund ihrer leicht verschiebbaren positiven Ladung für die elektrostatische Bindung und Ablösung der (negativ geladenen) präbiotischen Moleküle besonders günstig sind. Nachdem diese Überlegungen lange Zeit vor allem theoretischer Natur waren – beispielsweise spielen Eisen-Schwefel-Cluster bei vielen evolutionär alten Enzymkomplexen eine große Rolle –, gelang kurz vor der Jahrtausendwende der experimentelle Nachweis, dass an Pyritoberflächen aus Kohlenmonoxid und Schwefelwasserstoff Acetat gebildet werden kann (noch heute werden Fettsäuren aus Acetatresten aufgebaut, die über Schwefel mit Coenzym A verknüpft sind). Wenig später konnte die Bildung von Glycin an den Oberflächen gezeigt werden. Damit verschob sich die Entstehung von großen Biomolekülen von der Ursuppe in Richtung Pyritoberflächen, die vor allem im Umfeld von heißen Quellen zu finden sind, wie sie entlang der Kontinentalplatten, etwa dem Mittelatlantischen Rücken, sehr häufig vorkommen.

Diese auf den ersten Blick exotisch anmutende Theorie wurde in den letzten Jahren eindrucksvoll bestätigt: Bei der Erforschung heißer Tiefseequellen stieß man auf eigenartige Lebensgemeinschaften, die innerhalb von kurzer Zeit entstehen und deren Stoffwechsel auf der Chemosynthese beruht. Bei dieser Abwandlung (oder möglicherweise auch Vorform) der Photosynthese dient der aus den Tiefseequellen austretende Schwefelwasserstoff als Elektronendonator. Mithilfe der Elektronen wird das ebenfalls freigesetzte Kohlendioxid zu Kohlenhydraten reduziert, die den chemosynthetischen Bakterien (und indirekt den von diesen Bakterien lebenden Lebensformen) als Energiequelle dienen. Die Analogie zur Photosynthese ist offensichtlich, man ersetze nur den Schwefel durch den im Periodensystem oberhalb platzierten Sauerstoff und die Parallelen zur photosynthetischen Wasserspaltung werden deutlich. Die Ferredoxine, zentrale Proteine des photosynthetischen aber auch des mitochondrialen Elektronentransports, enthalten Eisen-Schwefel-Cluster, die man, ähnlich wie das oben schon erwähnte Coenzym A, inzwischen als Überbleibsel einer präbiotischen Welt deutet.

Durch die Anreicherung von Molekülen an geladenen und elektrostatisch flexiblen Pyritoberflächen bietet mit einem Mechanismus Lösungsansätze für gleich zwei Probleme der Lebensentstehung: Die lokale Anreicherung von präbiotisch entstandenen Bausteinen löst das Diffusionsproblem der Ursuppentheorie und die chemischen Eigenschaften (genauer: die leicht verschiebbaren Elektronen) des Übergangselements Eisen erklären elegant, wie die Aktivierungsenergie für die Neuknüpfung

von Bindungen bei der Kondensation von Monomeren der Biomakromoleküle auch ohne die Existenz von Enzymen überwunden werden können. Letztlich wird hier ansatzweise sogar schon ein Erklärungsmodell für das Problem der Kompartimentierung geliefert – durch elektrostatische Wechselwirkungen kann an der Oberfläche ein chemisch von der Lösung stark abweichendes Milieu lokal aufrechterhalten werden, auch wenn dieses nicht durch eine Membran abgeschirmt ist.

1.3.1.3 Kompartimentierung

Alle Zellen sind von semipermeablen Biomembranen umschlossen. Dies erlaubt es, ein inneres Milieu gegen eine Umgebung abweichender chemischen Zusammensetzung abzugrenzen, aufrechtzuerhalten und so unter Energieverbrauch chemische Gradienten aufzubauen, die sonst aufgrund der Diffusion sofort wieder verschwinden. Wie oben erwähnt, könnten lokale Aggregationen von Molekülen, die an Pyritoberflächen gebunden sind, als evolutionäre Vorstufen der Kompartimentierung gelten (■ Abb. 1.91). Diese Annahme gewann stark an Glaubwürdigkeit, als man heiße Tiefseequellen entlang der Grenze tektonischer Platten näher erforschte. Von diesen hydrothermalen Tiefseequellen gibt es unterschiedliche Typen: die extrem (mehr als 300 °C) heißen und sauren Schwarzen Raucher und die etwas weiter von der Plattengrenze entfernt gelegenen und darum mit 50–80 °C etwas kühleren Weißen Raucher, die oft gigantische Sintergebirge (mit einer Höhe von ca. 100 m) hervorbringen. In den Weißen Rauchern bilden sich häufig Kompartimente, deren Wand mit Eisensulfid (Pyrit) ausgekleidet ist und die mit etwa 50–100 µm Durchmesser in etwa die Dimensionen großer Zellen besitzen. Spannend ist nun, dass sich an dieser Pyritwand ein Protonengradient ausbildet, ganz ähnlich wie der Gradient an der Thylakoidmembran oder der inneren Mitochondrienmembran. Der Gradient wird dadurch verursacht, dass im Inneren der Weißen Raucher stark basisches Magma nachfließt, während außen dreiwertiges Eisen (Fe[III]) als Elektronenakzeptor angereichert ist. Fe(III) wird zu zweiwertigem Eisen (Fe[II]) reduziert, wodurch weitere Protonen freigesetzt werden und das Milieu noch saurer wird. Wenn Protonen von dem sauren Seewasser ins Innere des durch geochemische Prozesse sehr basischen Weißen Rauchers strömen und sich der Protonengradient zwischen beiden Seiten der Pyritwand ausgleicht, können chemische Bindungen neu geknüpft werden, sodass an der Membran durch Kondensationsreaktionen Makromoleküle entstehen. Man hat es hier also mit einer präbiotischen Version der Chemiosmose zu tun, mit der in Chloroplasten und Mitochondrien elektrische Energie in chemische Energie überführt wird. Es könnte daher sein, dass die erste Membran anorganischer Natur war und aus Pyriten bestand. Erst später lagerten sich an der Innenseite dieser Membran, die man in den Kämmerchen der Weißen Raucher auch tat-

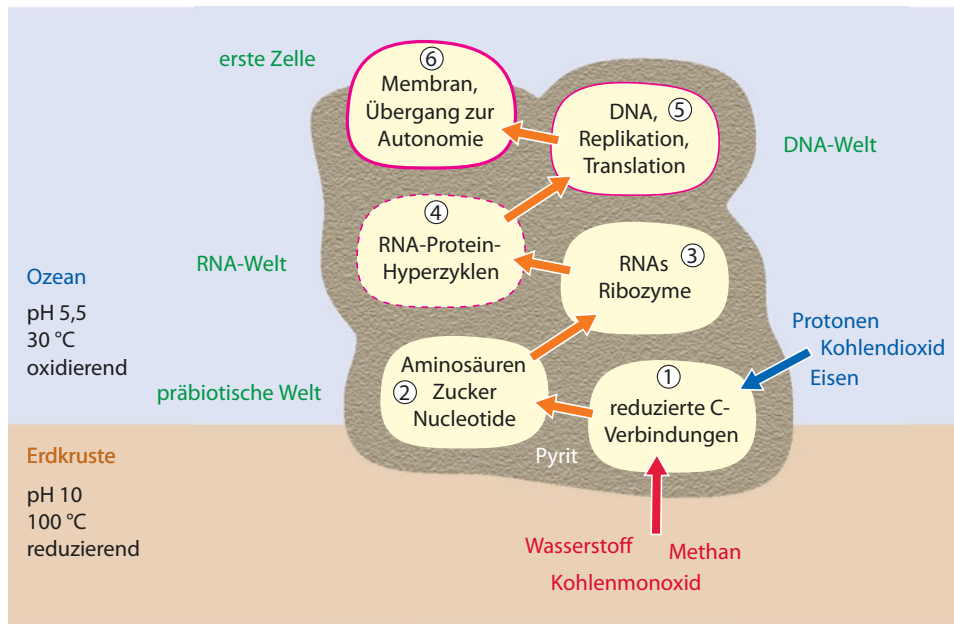


Abb. 1.91 Entstehung von ersten Lebensformen in Sinterkompartimenten eines Weißen Rauchers. Angetrieben durch Gradienten von Temperatur, pH-Wert und Redoxpotenzial zwischen Erdkruste und dem Ozean entstanden reduzierte Kohlenstoffverbindungen (1). Nach chemischen Prozessen, die jenen des Miller-Experiments ähneln, bildeten sich daraus präbiotische Moleküle wie Aminosäuren, Nucleotidbasen und Zucker (2). Auf der Oberfläche der Pyritwände kondensierten diese zu einfachen Oligomeren, etwa RNA. Später kam es zur Bildung von Ribozymen, die sich (mit einer hohen Fehlerrate) replizieren konnten. Durch Konkurrenz um freie Nucleotidbasen fand in diesem Stadium der erste (noch präbiotische) Evolutionsprozess statt, der zu Ribozymen mit höherer Kopiergenauigkeit führte (3). Durch Komplexbildung mit Oligopeptiden an der Pyritoberfläche stieg die Kopiergenauigkeit weiter. Es entstanden selbstreplizierende Hyperzyklen. Aus Lipiden, die sich an der Pyritoberfläche ansammelten, bildeten sich durch Selbstorganisation vesikuläre Strukturen, die zu größeren Tröpfchen verschmolzen, welche elektrostatisch auf der Kompartimentwand haften (4). Durch Einbinden der stabileren DNA (vermutlich über RNA-DNA-Hybride als Vorstufen) stieg die Kopiergenauigkeit weiter an (5). Aus den Lipidstrukturen war inzwischen eine durchgängige Doppelmembran entstanden, die immer unabhängiger von der stabilisierenden Pyritwand unabhängig wurde. Übergang zu frei lebenden Zellen (6)

sächlich nachgewiesen hat, lipophile Moleküle, etwa langkettige Kohlenwasserstoffe oder hydrophobe Aminosäuren, und schließlich auch amphiphile Moleküle an, wie die heute dominierenden Phospholipide. Damit wäre schrittweise die organische Membran, wie wir sie heute kennen, entstanden. Die erste, freilich hypothetische Vorstufe der ersten Zelle ist entstanden, indem sich diese hitzestabile Mischmembran von der Wand des Kämmerchens abgelöst und durch Abkugeln einen Zustand minimaler Energie angenommen hat. Diese Zelle war ausgestattet mit einem durch Protonengradienten angetriebenen, einfachen Metabolismus wie auch der Fähigkeit, an ihrer geladenen Membran präbiotisch entstandene Bausteine zu Polymeren zu kondensieren und bestimmte Bausteine selektiv zu akkumulieren. Durch die Akkumulation von Makromolekülen hatte sie sogar die Möglichkeit, Volumen und Oberfläche zu vergrößern, also zu wachsen. Was dieser Vorform der ersten Zelle jedoch noch fehlte, war die Fähigkeit zur Vererbung dieser metabolischen Fähigkeiten.

1.3.1.4 Selbstorganisation und Vererbung

Selbstorganisation setzt voraus, dass sich ein System innerhalb einer gewissen Schwankungsbreite von Bedingungen auf eine festgelegte Weise zu organisieren ver-

mag, also einen gewissen Grad an Autonomie aufweist. Diese Eigenschaft ist verbreiteter als gemeinhin angenommen und kommt durchaus nicht nur bei lebenden Systemen vor. Im Grunde ist jedes System, bei dem das Ergebnis eines Vorgangs auf den Vorgang selbst zurückwirkt, zur Selbstorganisation befähigt. Der britische Mathematiker Alan Turing (1912–1954) konnte zeigen, dass chemische Vorgänge, die sich selbst verstärken, aber in ihrer Nachbarschaft die Entstehung gleichartiger Vorgänge unterdrücken, zur Selbstorganisation befähigt sind. Diese Unterdrückung kann dabei recht einfach dadurch zustandekommen, dass ein Faktor, der für den chemischen Vorgang notwendig ist, verbraucht wird. Ein berühmtes Beispiel ist die Belousov-Zhabotinsky-Reaktion, in der ein Redoxsystem aus mehreren einfachen Verbindungen ein oszillierendes Muster hervorbringt. Wie könnte nun eine Selbstverstärkung bei einem präbiotischen Prozess aussehen? Beispielsweise würde sich ein metabolischer Vorgang, dessen Produkt diesen Vorgang als Substrat oder Cofaktor fördert, selbst verstärken. Wächtershäuser betont, dass es schon auf diese Weise, ohne jegliche Form von Vererbung, zu einer allmählichen Verwandlung der an einer Pyritoberfläche stattfindenden Prozesse kommen würde, indem manche Prozesse sich aufgrund der Selbstverstärkung

durchsetzen, während andere, denen diese Selbstverstärkung fehlt, immer mehr verlorengehen.

Wenn ein solches System die Selbstorganisation nicht nur erhalten, sondern kopieren und damit weitergeben kann, entsteht eine völlig neue Situation. Jene Systeme, die sich erfolgreich selbst verstärken können, würden sich dann durchsetzen und jede zufällige Veränderung, die die Selbstverstärkung verbessert, würde das System weiter vervollkommen. Letztendlich müsste ein bestimmtes Molekül die Entstehung gleichartiger Moleküle hervorrufen (dies wäre eine erste einfache Form von Vererbung).

In der modernen Zelle ist eine solche Selbstverstärkung offensichtlich: Die DNA ist ja in der Lage, sich selbst zu kopieren. Freilich benötigt sie dafür eine komplexe Maschinerie aus RNA (mRNA, tRNA, rRNA) und zahlreichen Proteine mit struktureller und enzymatischer Funktion, die ihrerseits wieder in der DNA codiert sind und erst über Transkription und Translation erzeugt werden müssen. Hier scheint sich die Katze in den Schwanz zu beißen, weil man ein sehr komplexes Geschehen voraussetzen muss, um das Phänomen der Vererbung zu erzeugen. Wie sollte dieses komplexe Geschehen schlagartig entstanden sein? Handelt es sich hier um einen Fall von nichtreduzierbarer Komplexität? Die Frage der Vererbung wird zur schwierigsten Nuss, die es bei der wissenschaftlichen Behandlung der Lebensentstehung zu knacken gilt.

Der Durchbruch kam, wie so oft in der Wissenschaft, durch eine überraschende Entdeckung: Bei der Suche nach dem Enzym RNase P, das die reifen tRNAs aus den inaktiven prä-tRNAs freisetzt, gelang Sidney Altman, der für diese Arbeiten 1989 den Nobelpreis erhielt, der Nachweis, dass RNase P kein Protein ist, sondern ein RNA-Molekül. Innerhalb kurzer Zeit konnte man eine ganze Reihe solcher RNAs mit enzymatischer Aktivität (Ribozyme) identifizieren, darunter auch solche, die (mit einer großen Fehlerrate) in der Lage waren, sich selbst zu kopieren. Dies führte Walter Gilbert (1986) dazu, auf der Grundlage dieser Ergebnisse eine **RNA-Welt-Hypothese** vorzuschlagen: Diese besagt, dass vor der Aufgabenteilung in Informationsspeicherung (durch DNA) und Ausprägung dieser Information (durch Proteine) in der modernen Zelle ein System existiert hat, bei dem ein Molekül, die RNA, beide Funktionen übernommen hat. Spuren dieser RNA-Welt sind auch in der modernen Zelle noch vorhanden, nämlich bei der Übertragung der in der DNA gespeicherten Information in Proteine, an der verschiedene RNA-Formen (mRNA, tRNA und rRNA) beteiligt sind.

Die RNA-Welt-Hypothese vereinfachte die Frage einer präbiotischen Vererbung ungemein, da man nun nicht mehr ein dreischichtiges Gebilde dreier Makromoleküle benötigte, sondern die Vererbung und Ausprägung der Erbinformation auf der Ebene eines einzigen Molekültyps erklären konnte. Wenn ein RNA-Oligomer die Entstehung weiterer RNA-Oligomere begünstigte und aufgrund der komplementären Basenpaarung bestimmte Oligomere wirkungsvoller gefördert wurden als andere, entstand damit ein System, das sich, wenn auch mit ho-

hem Ausschuss abweichender Varianten, selbst reproduzierte. Manfred Eigen (Nobelpreis 1967) führte hierfür den Begriff der Quasispezies ein, wonach ein Urribozym einen ganzen Schwarm mehr oder minder ähnlicher, aber eben nicht gleicher Kopien erzeugen konnte. Wenn unter diesen Varianten eine war, die eine geringere Fehleranfälligkeit oder eine höhere Kopienzahl hervorbrachte, würde sich diese schnell durchsetzen und immer vollkommener werden. In der Tat gelang es in einer Art Evolution im Reagenzglas aus sehr fehlerhaften Ribozymen binnen weniger Wochen neue Varianten zu produzieren, die viel präziser und effizienter waren – ein Prozess, der auf ähnliche Weise vielleicht auch in dem präbiotischen Pyritkompartiment eines Weißen Rauchers abgelaufen ist. Dieses System von sich selbst verstärkenden Ribozymen (Manfred Eigen führte für solche Systeme den Begriff **Hyperzyklus** ein) wäre stabil und würde sich daher erfolgreicher reproduzieren. Wenn nun in der Nachbarschaft solcher Ribozyme aufgrund der elektrostatischen Ladung an der Pyritmembran einfache Oligopeptide gebunden wären, würden diese Hyperzyklen deutlich effizienter, weil die vielfältigeren und geschmeidigeren Funktionalitäten von Peptidoberflächen den Vorgang schneller und auch präziser werden lassen. In dem Moment, in dem die Ribozyme auch auf die Bildung von Oligopeptiden einwirkten (und sei dies noch so vage), entstünde ein zur Vererbung befähigtes, sich selbst organisierendes System aus Peptiden und Ribozymen. Jede Veränderung, die zur Effizienz („Reproduktion“) dieses Hyperzyklus beitrüge, würde damit positiv selektiert. Ob solche Hyperzyklen tatsächlich vor 3,5–4 Mrd. Jahren für die Entstehung der ersten Urzellen Pate standen, lässt sich natürlich nicht beweisen. Die autonome Evolution von künstlichen, im Reagenzglas erzeugten Hyperzyklen konnte jedoch experimentell gezeigt werden und dient hier als Indizienbeweis für eine präbiotische Entstehung von Vererbung als zentraler Fähigkeit lebender Systeme.

Das komplexe Problem der Lebensentstehung lässt sich also durchaus auf einzelne Teilprobleme reduzieren, für die sich rationale, plausible und teilweise auch experimentell überprüfbare Erklärungen finden lassen. Man sollte sich jedoch in Erinnerung rufen, dass hier eine Reduktion vorgenommen wurde. Wie und aus welchen präbiotischen Vorläufern die erste Zelle genau entstanden ist, lässt sich nur vermuten. Gab es erst die Hyperzyklen und danach die Kompartimentierung oder war es umgekehrt? Die ausgeprägte Chiralität vieler biologischer Moleküle und die einheitliche Ausgestaltung vieler Phänomene (man denke etwa an den universell gültigen genetischen Code) deuten darauf hin, dass die Schwelle von präbiotischen Vorläufern zu lebenden Zellen nicht allzu oft überschritten wurde. Auch wenn sich die genaue Historie der Lebensentstehung vermutlich

nie ganz wird aufklären lässt, hat die Forschung der letzten Jahrzehnte plausibel machen können, dass präbiotische Vorstufen lebender Zellen zwangsläufig entstehen mussten und man daher nicht die Metaphysik bemühen muss, um die Entstehung von Leben zu erklären. Gleichzeitig erlaubt diese Erklärung, zahlreiche Rätsel der modernen Zelle (die Rolle der RNA für die Genexpression, die Bedeutung von FeS-Clustern bei der Energiegewinnung in Mitochondrien und Plastiden, die enzymatische Rolle der RNA bei der Translation) zu verstehen.

Diese erste Urzelle war also von einer (vermutlich pyritreichen) Membran umschlossen, an der durch Protonentransport chemische Energie zum Aufbau von elektrostatisch an diese Membran gebundenen Oligopeptiden und Oligonucleotiden genutzt werden konnte, womit ein sich zwar fehlerbehaftetes, aber evolutionsfähiges Hyperzyklussystem reproduzieren konnte. Auch wenn man sich plausibel machen kann, dass sich diese Urzelle im Laufe der unvorstellbaren Zeiträume langsam und dann immer schneller durch Evolution vervollkommen konnte, ist sie dennoch weit von der modernen eukaryotischen Zelle entfernt, deren Inneres in zahlreiche Kompartimente gegliedert ist. Die Funktionen dieser Kompartimente erfordern sehr unterschiedliche chemische Bedingungen und konnten daher wohl kaum gemeinsam durch dieselben Bedingungen selektiert werden.

1.3.2 Symbiogenese ermöglicht die Entstehung der modernen Zelle

Das recht ausgeprägte Eigenleben der Chloroplasten (► Abschn. 1.2.9) war noch im ausgehenden 19. Jahrhundert von Andreas Schimper (1856–1901) bemerkt worden. Beispielsweise beschrieb er erstmals die als Stromuli bezeichneten, fadenartigen Verbindungen zwischen benachbarten Chloroplasten (■ Abb. 1.80) und äußerte schon die vorsichtige Vermutung, dass die Chloroplasten so etwas wie eigenständige Organismen seien. Angeregt von diesen Ideen formulierte Konstantin Sergejewitsch Mereschkowski (1855–1921) seine Hypothese, dass die Chloroplasten ursprünglich frei lebende „Blualgen“ (Cyanobakterien) gewesen seien, die später von anderen Zellen aufgenommen wurden und sich in die heutigen Chloroplasten verwandelt hätten. Seine erstmals 1905 publizierte Hypothese geriet jedoch bald wieder in Vergessenheit, was vermutlich auch mit der exzentrischen Persönlichkeit Mereschkowskis zu tun hatte. Seine damals noch sehr kühne Spekulation erwies sich später jedoch als ausgesprochen fruchtbar und wurde von Lynn Margulis (1938–2011) mit einer Vielzahl auch molekularer Befunde unterstützt. Ihre Schlussfolgerung, dass Mitochondrien und Plastiden aus prokaryotischen Vorläufern über Endosymbiose zu den heutigen

Organellen wurden, ist inzwischen allgemein anerkannt. Die endosymbiotische Entstehung anderer Organellen wie der eukaryotischen Geißel, die spirillenartigen Bakterien zugeschrieben werden, ist umstrittener. Hingegen zeichnet sich immer mehr ab, dass die schon von Mereschkowski behauptete Entstehung des Zellkerns aus einem frei lebenden Prokaryoten im Wesentlichen zutrifft.

Die Symbiogenesetheorie bietet eine einfache und elegante Lösung für zahlreiche, vorher unverstandene Beobachtungen an (► Abschn. 1.3.3). Warum in Mitochondrien und Chloroplasten ringförmige DNA und kleine Ribosomen des prokaryotischen Typs zu finden sind, wird durch sie ebenso verständlich wie die Tatsache, dass beide Organellen über zwei chemisch deutlich unterschiedliche Membranen verfügen. Vor allem lässt sich mit dieser Theorie ein Paradoxon der evolutionären Entstehung von Eukaryoten auflösen: Um die Entstehung eines Organells wie das Mitochondrion erklären zu können, müssen ganz andere Selektionsfaktoren gewirkt haben wie jene, die man zur Erklärung des cytoplasmatischen Metabolismus annehmen muss. Wie in ein und derselben Zelle unterschiedliche und sich teilweise widersprechende Bedingungen geherrscht haben sollen, ist schwer nachzuvollziehen. Nimmt man jedoch an, dass sich zwei unterschiedliche Organismen unter verschiedenen Bedingungen entwickelt haben und sich später über Symbiogenese zusammengeschlossen haben, wird die evolutionäre Erklärung deutlich einfacher. Man kommt so zu einem Modell, das unterschiedliche Kompartimente der eukaryotischen Zelle modular (also nach Art von Legobausteinen) kombiniert.

Eine nach wie vor kontrovers diskutierte Frage ist die nach der Natur der ersten Wirtszelle. Handelte es sich um einen Urkaryoten mit einem Zellkern, der sich prokaryotische Endosymbionten einverleibt hat, oder war die Wirtszelle prokaryotischer Natur, entstand also der Zellkern erst nach Aufnahme der Endosymbionten oder war er gar selbst einer?

Inzwischen wird alternativ zur klassischen Hypothese eines Urkaryoten eine alternative Hypothese diskutiert, die **Hydrogenhypothese**. Ihre Basisaussage ist, dass es Urkaryoten als eigene Entwicklungslinie in der Frühevolution des Lebens überhaupt nicht gegeben hat, sondern die ersten Eucyten bereits Produkt einer zellulären Symbiose von methanogenen Archaeen und α -Proteobakterien waren. Die Bakterien bilden bei Sauerstoffmangel Wasserstoff, den die Archaeen für die Produktion von Methan benötigen. Die Symbiose hätte die Archaeen also unabhängig von abiotischen H_2 -Quellen gemacht. Durch Umwachsen könnten sich dann die Archaeen ihre Partner völlig einverleibt haben, die sich ihrerseits in der weiteren Evolution entweder zu **Hydrogenosomen** entwickelten (diese Organellen findet man bei anaeroben eukaryotischen Einzellern anstelle der Mitochondrien, sie enthalten jedoch keine eigene DNA) oder – bei Verfügbarkeit von O_2 – zu Mitochondrien. Nach dieser Hypothese hätten also schon die ertümlichsten Eucyten bereits α -Proteobakterien enthalten und mussten sie sich, entgegen der entsprechenden Aussage der Endosymbiontentheorie, nicht erst nachträglich durch Phagozytose einverleiben. Die Hyd-

rogenhypothese wird unter anderem dadurch gestützt, dass gerade die methanogenen Archaeen – wie sonst nur Eukaryoten – Histone besitzen und Nucleosomen bilden. Auch molekulare Stammbäume belegen eine nahe Verwandtschaft von Archaeen und Eukaryoten, die beide deutlich später als die Prokaryoten entstanden sind und inzwischen zu einer als Neomura bezeichneten Gruppe zusammengefasst werden. Es gibt jedoch auch Argumente gegen die Hydrogenhypothese: Anhand der durch Sequenzierung identifizierten Genomfragmente, die man aus untermeerischen Geysiren vor Island gewonnen hat, gelang der Nachweis einer neuen Organismengruppe mit typisch eukaryotischen Sequenzen, darunter Gene für Actin oder für das ESCRT-System, das an der Exocytose beteiligt ist. Jedoch waren diese Genome eindeutig den Archaeen zuzuordnen, sodass man diese Organismen (die man wohlgerne noch nie *in natura* gesehen hat, bei den Genen handelte sich lediglich um Rekonstruktionen von DNA-Fragmenten) als Lokiarchaeota bezeichnete. Sie gelten als die Lebensform, die dem gemeinsamen Vorfahren von Eukaryoten und Archaeen am nächsten kommt. Laut Hydrogenhypothese können die Lokiarchaeota Methan synthetisieren, die entsprechenden Gene konnten jedoch nicht gefunden werden. Da man es hier wieder mit zum Teil sehr indirekten Indizienbeweisen zu tun hat, die auf Untersuchungen schwer zugänglicher Biotope (heißen Quellen der Tiefsee) zurückgehen, muss man damit rechnen, dass neue Funde die bisherigen Vorstellungen jederzeit umwerfen können. Dieses Feld ist also ebenso spannend wie schwierig. Trotz aller zum Teil heftig ausgetragenen Kontroversen wird die Symbiogenese jedoch allgemein als zentrale Triebfeder für die Entstehung der Eukaryoten gesehen.

Der Prozess der Symbiogenese endete jedoch nicht mit der Entstehung der eukaryotischen Zelle, sondern setzte sich auch danach noch fort, wofür es zahlreiche, teilweise sehr spektakuläre Beispiele gibt:

Beispielsweise können Leguminosen (Hülsenfrüchte) eine Symbiose mit Bakterien der Gattungen *Rhizobium* und *Bradyrhizobium* eingehen. Der prokaryotische Endosymbiont kehrt die Polarität des Actinskeletts in den Wurzelhaaren um, sodass sich die Haarspitze vergleichbar mit einem Handschuhfinger umstülpt, sich ins Wurzelinnere bohrt und den Bakterien so ermöglicht, in die Zellen des kortikalen Gewebes einzudringen. Da die Endosymbionten über eine Nitrogenase verfügen, können sie Luftstickstoff unter Aufwand von ATP zu Ammonium reduzieren, den sie dann an die Wirtszelle abgeben, wofür sie im Gegenzug Zucker erhalten. Dadurch erschließen sich die Wirtspflanzen bioverfügbaren Stickstoff, für Pflanzen in der Regel ein Mangelfaktor (► Abschn. 16.2.1). Bei Steinkorallen bewirken endocytische Dinoflagellaten (**Zooxanthellen**, ■ Abb. 19.40) durch ihre Photosynthese ein bis zu zehnfach beschleunigtes Wachstum. Bei Amöben, verschiedenen Ciliaten und manchen Pilzen sowie beim Süßwasserpolypen *Hydra* gibt es Formen, die durch endocytobiontische einzellige Grünalgen (**Zoochlorellen**) Photosynthese betreiben können und dadurch teilweise oder ganz photoautotroph geworden sind. Die Bildung stabiler Endocytobiosen ist jedenfalls bei rezenten Organismen ein weit verbreitetes und auch ökologisch bedeutsames Phänomen (► Abschn. 16.2). Ein besonders skurriler Fall ist die marine Nacktschnecke *Elysia chlorotica*, die siphon-

alen Xanthophyceae (Gelbgrünalgen) der Gattung *Vaucheria*, die Chloroplasten entnimmt und diese dann in seiner lichtdurchlässigen Darmwand förmlich kultiviert (ein Vorgang, der als Kleptoplastie bezeichnet wird). Wird dieser Mollusk bei Licht gehalten, kann er mehr als acht Monate ohne Nahrung auskommen, was deutlich macht, dass die photosynthetische Aktivität der übernommenen Chloroplasten in der Tat zum Energiehaushalt des Wirts beiträgt. Da hier der Endosymbiont selbst schon aus einer Endosymbiose (die Plastiden entstanden ja selbst aus eigenständigen Organismen) hervorgegangen ist, spricht man hier von einer **sekundären Endosymbiose**.

Solche sekundären Endosymbiosen zwischen eukaryotischen Zellen waren, wie man inzwischen weiß, sehr häufig und haben zur Entstehung zahlreicher Algen (Rotalgen, Braunalgen, Kieselalgen, aber auch Dinoflagellaten oder Euglenophyten) beigetragen. Häufig lassen sich zusätzliche Membranen, Enzymkomplexe oder gar Gene des Endosymbionten nachweisen, die sich durch sekundäre Endosymbiose erklären lassen. Sogar früher als Tiere aufgefasste Flagellaten gelten inzwischen als Produkt von solchen sekundären Endosymbiosen. Prominentes Beispiel ist der Erreger der Malaria, *Plasmodium falciparum*, der in einem rätselhaften Organell, dem Hohlzylinder, ein rudimentäres Plastidengenom trägt. Man muss davon ausgehen, dass zahlreiche dieser symbiotischen Vorgänge noch gar nicht erkannt als solche erkannt wurden, sodass für die Taxonomie der Protisten und Algen in den kommenden Jahren noch zahlreiche Revisionen zu erwarten sind.

1.3.3 Domestizierung von Cyanobakterien und die erste Pflanzenzelle

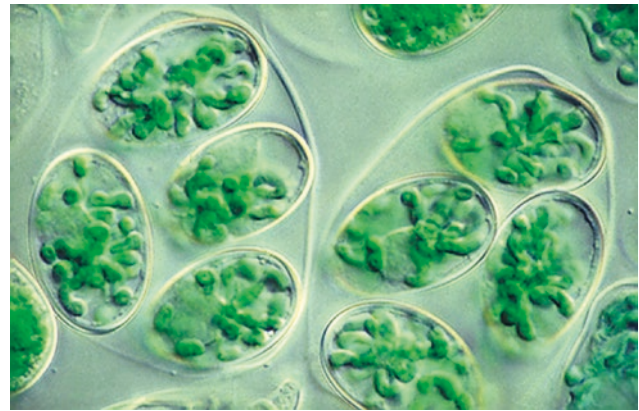
Die Plastiden ähneln in vielerlei Hinsicht den Mitochondrien: Sie sind ständig durch ihre doppelte Membranhülle vom Cytoplasma getrennt, besitzen eigene, ringförmige DNA ohne Histone und Nucleosomen und zeigen bei Transkription und Translation Merkmale der Bakterien. Weiterhin entstehen sie nicht *de novo*, sondern ausschließlich durch Teilung aus ihresgleichen. Dieses Eigenleben lässt sich erklären, wenn man annimmt, dass beide Organellen ursprünglich prokaryotische Organismen waren, die sich in intrazelluläre Symbionten (**Endocytobionten**) verwandelt haben, indem sie in urtümliche Eucyten inkorporiert wurden. An rezenten Endocytobiosen lassen sich die Postulate der Endosymbiontentheorie prüfen. Wie im vorangegangenen Abschnitt ausgeführt, wird die Antwort die Frage, wie die Mitochondrien in die eukaryotische Zelle gelangt sind, durchaus noch diskutiert. Nur wenig Zweifel gibt es dagegen daran, dass zu einem späteren Zeitpunkt die

in vielerlei Hinsicht autonomen Plastiden durch Phagozytose von Cyanobakterien in eine echte eukaryotische Zelle gelangt sind, wodurch die erste Pflanzenzelle entstanden ist. Die Cyanobakterien wurden dann zunehmend in den Wirtsorganismus integriert. Beispielsweise wurde ein Großteil der Gene vom ringförmigen Genom des Endosymbionten in den Zellkern übertragen, sodass die entsprechenden Proteine mithilfe von Signalpeptiden in den Plastiden importiert werden müssen (► Abschn. 1.2.9.1). Durch diesen Gentransfer verlor der Endocytobiont seine Autonomie und wurde gleichsam „domestiziert“. Interessanterweise lassen sich Übergangsformen dieser Domestizierung auch noch an rezenten Lebensformen nachweisen:

Manche Endocytobionten können (im Gegensatz zu Chloroplasten und Mitochondrien) unabhängig von ihren Wirten überleben. In anderen Fällen ist die gegenseitige Abhängigkeit der Symbiosepartner so ausgeprägt, dass sie in der Natur nur noch gemeinsam vorkommen. Extreme Beispiele dafür stellen die **Endocyanome** dar, Einzeller, in denen Cyanobakterien als permanente intrazelluläre Symbionten leben (■ Abb. 1.92). Die endocytischen Cyanobakterien spielen die Rolle von Chloroplasten. Sie werden als **Cyanellen** bezeichnet (griech. *kýanos*, blau), in manchen Fällen (z. B. bei der Gattung *Paulinella*) auch als Chromatophoren. Cyanellen können außerhalb ihrer Wirte nicht am Leben erhalten werden. Ihre DNA hat nur noch 1/10 der Konturlänge bzw. der Informationskapazität des Genoms frei lebender Cyanobakterien. Die Mehrzahl der cyanellenspezifischen Proteine wird nicht von dieser DNA codiert, sondern von der Kern-DNA der Wirtszellen. Damit ist bei den Cyanellen, die noch über Reste einer prokaryotischen Zellwand verfügen, eine Situation erreicht, die auch in genetischer Hinsicht jener bei Plastiden entspricht.

Die Endosymbiontentheorie stützt sich, wie erwähnt, vor allem auf eine Reihe besonderer Merkmale von Plastiden und Mitochondrien, die auch bei Bakterien beobachtet werden:

- ringförmige DNA ohne höherrepetitive Sequenzen, mit Membranheftung, in Nucleoiden konzentriert, keine Histone und damit auch keine Nucleosomen
- Replikation und Teilung vom Zellzyklus der Wirtszelle entkoppelt
- Sequenzverwandtschaft bei Mitochondrien mit α -Proteobakterien, bei Plastiden mit Cyanobakterien
- nur eine RNA-Polymerase, die sich molekular von den (drei) RNA-Polymerasen des Zellkerns unterscheidet, beispielsweise wird die Organellen-RNA-Polymerase durch Rifampicin gehemmt, die Kern-RNA-Polymerasen dagegen durch Amanitin
- Enden der mRNAs ohne Cap-Struktur am 5'-Ende und ohne Poly(A)-Extension am 3'-Ende (► Abschn. 5.2)



■ **Abb. 1.92** Endocyanome. *Glaucocystis nostochinearum* mit wurstförmigen Cyanellen. (LM-Aufnahme: P. Sitte)

- Ribosomen, die (unter anderem) in Größe und Empfindlichkeit gegen Hemmstoffe dem 70S-Typ der Bakterien entsprechen
- Translationsbeginn mit Formylmethionin (statt Methionin wie bei den cytoplasmatischen 80S-Ribosomen)
- funktionelle Komplementierung von mitochondriellen bzw. plastidären Ribosomenuntereinheiten durch die entsprechende Untereinheit bakterieller Ribosomen.

Auch sonst bestehen auffällige Verwandtschaften der Organellen mit Bakterien. Die innere Mitochondrienmembran enthält z. B. das sonst nur bei Bakterien vorkommende Cardiolipin, während ihr die für Eucytenmembranen typischen Sterollipide fehlen (■ Abb. 1.93). Den Thylakoiden der Chloroplasten fehlen die Cardiolipine, hier sind vor allem Galactolipide häufig, die in anderen Membranen von Pflanzenzellen selten sind. Dafür kommt in der Thylakoidmembran der Chloroplasten das Protein VIPPI1 vor, das sonst nur aus Cyanobakterien bekannt ist.

Die von der Endosymbiontentheorie postulierte Inkorporation der Endocytobionten muss durch Phagozytose erfolgt sein, dem bei Protozoen (aber z. B. auch bei den Granulocyten und Makrophagen der Säuger und des Menschen) verbreiteten Mechanismus zur Aufnahme partikulärer Nahrung (■ Abb. 1.94). Bei der Phagozytose entsteht zwangsläufig die von Plastiden und Mitochondrien bekannte Kompartimentierung: Phagozytierte Zellen sind in der Fresszelle von einer doppelten Membranhülle umgeben, wobei die innere Membran der Plasmamembran der aufgenommenen Zelle entspricht, die äußere dagegen der Phagosomen-(Endosomen-)membran, die ihrerseits aus der Plasmamembran der aufnehmenden Zelle hervorgegangen ist. Inzwischen häufen sich

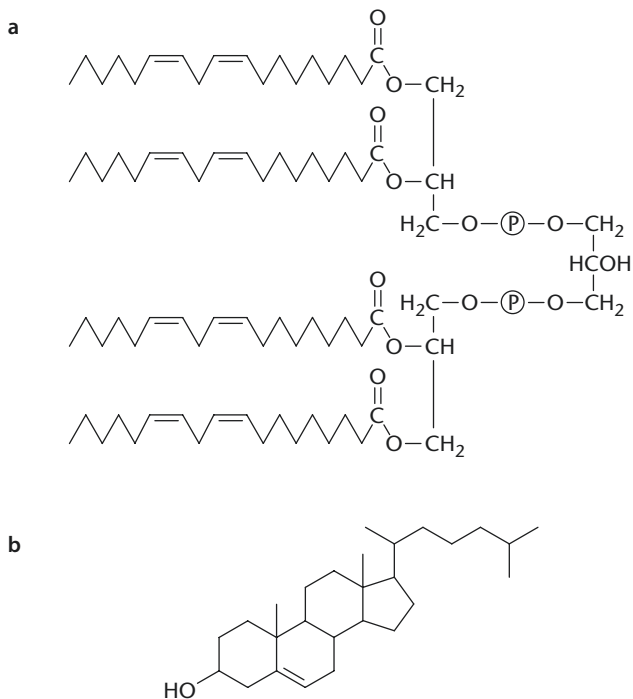


Abb. 1.93 **a** Cardiolipin, ein Phospholipid, ist bei Bakterien weit verbreitet. Es kommt in Eucyten aber nur in der inneren Mitochondrienmembran vor. **b** Sterolipide (als Beispiel hier Cholesterin) fehlen dagegen in den Membranen frei lebender Prokaryoten und in der inneren Mitochondrienmembran, sind aber häufiger Membranbestandteil bei Eukaryoten

jedoch die Hinweise, dass die äußere Membran der Mitochondrien, möglicherweise auch der Plastiden, Komponenten enthält, die vermutlich der äußeren Membran von Prokaryoten entstammen. Dies gilt beispielsweise für Proteintransportkomplexe. Unabhängig davon, welches der beiden Modelle zutrifft, sind eigentlich drei Membranen zu erwarten. Möglicherweise sind die äußere Membran des Endosymbionten und die Plasmamembran des phagozytierenden Wirts miteinander fusioniert. In Tierzellen werden aufgenommene (Nahrungs-)Partikel normalerweise in Lysosomen verdaut. Das unterbleibt jedoch bei der Etablierung von Endocytobiosen. Stattdessen überleben die endocytiierten Einzeller in der Wirtszelle als Symbionten bzw. Parasiten. So einleuchtend die phagozytische Aufnahme von Organellen auf den ersten Blick erscheint, gibt es doch zwei kritische Fragen: 1) Für eine phagozytische Aufnahme von α -Proteobakterien (den mutmaßlichen Vorläufern der Mitochondrien) benötigt man eine komplexe zelluläre Maschinerie, die unter anderem einen Membranfluss, molekulare Motoren und Cytoskelett umfasst. Bei Prokaryoten fehlen diese Komponenten. Die erste Wirtszelle müsste daher also schon ein echter Eukaryot gewesen sein (Abb. 1.94). Zwar gibt es einige Protisten, bei denen man weder Hydrogenosomen noch Mitochondrien findet und die daher als Kandidaten

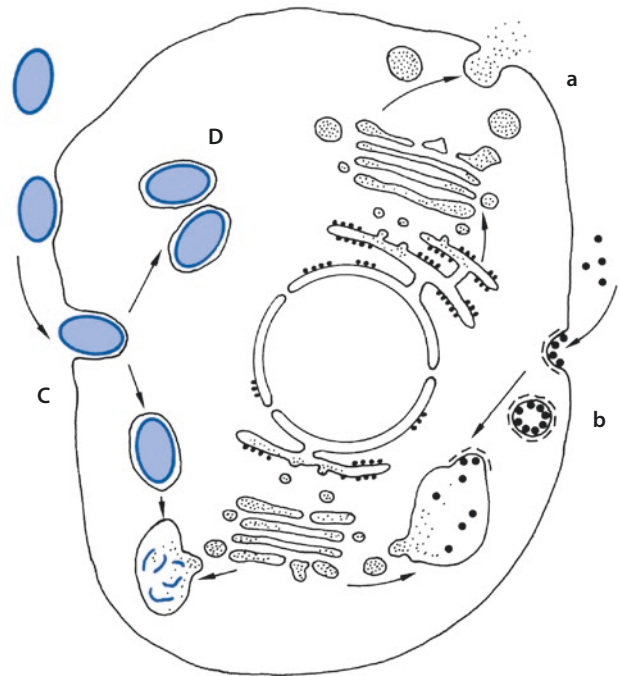


Abb. 1.94 Phagozytose und Endocytobiose. Eine eukaryotische Zelle, die zur Formänderung befähigt ist (so wie es bei Amöben zu beobachten ist), kann neben der Exo- und Endocytose molekularer Partikel (A, B) unter Einfaltung der Zellmembran durch Phagozytose (C) auch ganze Beutezellen (blau) in eine Nahrungsvakuole (ein Phagosom) aufnehmen. Bei Fusion mit primären Lysosomen entstehen daraus Verdauungsvakuolen. Das unterbleibt bei der Bildung stabiler Endocytobiosen (D); die Beutezelle überlebt in der Wirtszelle als Symbiont (oder Parasit) und kann sich in ihr vermehren

für einen solchen Eukaryoten ohne Mitochondrien infrage kommen könnten, allerdings zeigen neuere Forschungen, dass diese Organismen Spuren mitochondrialer Gene enthalten und die Mitochondrien sekundär verloren haben. 2) Für eine phagozytische Aufnahme von Cyanobakterien (den mutmaßlichen Vorläufern der Plastiden) muss man eine Zelle annehmen, die noch keine Zellwand besitzt. Die von einer Zellwand umgebenen Pflanzenzellen verfügen zwar über eine bisweilen intensive Endocytose, können aber nur kleine Vesikel abschneiden. Es wäre jedoch denkbar, dass unbewandete Flagellaten, ähnlich dem heute noch existierenden Zooflagellaten *Cyanophora paradoxa* oder den photosynthetisch aktiven, „echt pflanzlichen“ Flagellaten wie die Euglenophyten, Cryptomonaden oder Dinoflagellaten auch ganze Cyanobakterien phagozytieren konnten. Jedoch zeigte sich, dass diese „pflanzlichen“ Flagellaten aus sekundären Endosymbiosen anderer Organismen (Grün- und Rotalgen) hervorgegangen sind.

Auch wenn viele Detailfragen der Endocytobiose von Mitochondrien und Plastiden noch ungeklärt sind und auf diesem Gebiet aufgrund der Fortschritte der Genomik in den nächsten Jahren noch mit einigen Über-

raschungen zu rechnen ist, zählt die Endosymbiontentheorie doch zu den erklärungsstärksten Theorien der modernen Biologie, da sie viele Probleme auf elegante Weise zu lösen vermag. Auch hat sie unseren Blick auf die Evolution entscheidend erweitert: Neben Mutation, genetischer Rekombination oder horizontalem Gentransfer können neue Lebensformen auch durch die Bildung stabiler intrazellulärer Symbiosen entstehen. Die eukaryotische Zelle stellt eigentlich eine **intertaxonomische Kombination** dar, ein Mosaik aus Zellen verschiedener Organismenreiche. Während der sehr lange dauernden Coevolution von Wirtszellen und Endocytobionten haben sich die Symbionten nach und nach zu den Organellen entwickelt, wie sie in rezenten Eucyten vorkommen. Die in der Evolutionsbiologie üblichen Stammbäume müssten daher an ihrer Basis, wo solche Symbiogenesen häufig auftraten, durch Abstammungsnetze ersetzt werden. Die fortschreitende Domestizierung des Endocytobionten betraf unter anderem die eigene Zellwand, die verloren ging, die Abstimmung von Vermehrung und Differenzierung auf die speziellen Bedürfnisse der Wirtszellen, die Entwicklung von Translokatorsystemen in den Hüllmembranen für intensiven Stoffaustausch, die Abgabe energiereicher Metaboliten wie ATP oder Triosephosphate ins Cytoplasma und schließlich die Verlagerung von genetischer Information aus den Symbionten/Organellen in die Wirtszellkerne, kombiniert mit dem spezifischen Import von Proteinen und tRNAs aus dem Cytoplasma in die Organellen.

Verglichen mit den Mitochondrien sind die Plastiden auf diesem Weg der Domestizierung noch nicht so weit vorangeschritten. Dies zeigt sich nicht nur in ihrer ausgeprägten metabolischen und morphologischen Flexibilität, sondern auch darin, dass sie noch ein eigenes Teilungssystem besitzen, welches aus dem bakteriellen Tubulinvorläufer FtsZ aufgebaut ist und den sich teilenden Plastiden als sich verengender Ring einschnürt. Zwar wird FtsZ im Kerngenom codiert, aber mithilfe seines Signalpeptids in den Plastiden importiert. Da bei den schon vor längerer Zeit domestizierten Mitochondrien die Abschnürung vollständig von außen über einen Dynamiring vollzogen wird, gibt es in Tierzellen keine Gene für FtsZ. Selbst dieses überraschende Detail lässt sich mit der Endosymbiontentheorie erklären.

Die Struktur von Pflanzenzellen ist erstaunlich komplex und die evolutionäre Basis für diese Komplexität liegt in dem Zusammenschluss von drei ursprünglich unabhängig voneinander existierenden Lebensformen zu einem Superorganismus.

Quellenverzeichnis

- Green PB (1962) Mechanism for plant cellular morphogenesis. *Science* 138:1401–1405
- Haberlandt C (1969) Experiments on the culture of isolated plant cells. *Bot Rev* 35:68–88. <https://doi.org/10.1007/BF02859889>
- Hepler PK (1985) Calcium restriction prolongs metaphase in dividing *Tradescantia* stamen hair cells. *J Cell Biol* 100:1363–1368
- Ledbetter MC, Porter KR (1963) A „microtubule“ in plant cell fine structure. *J Cell Biol* 19:239–250
- Schattat M, Barton K, Mathur J (2015) The myth of interconnected plastids and related phenomena. *Protoplasma* 252:359–371

Weiterführende Literatur

- Alberts B, Johnson AD, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, Peter W (2017) *Molekularbiologie der Zelle*, 6. Aufl. Wiley-VCH, Weinheim
- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (2015) *Biochemistry and molecular biology of plants*. Elsevier, New York
- Grosche C, Rensing SA (2017) Three rings for the evolution of plastid shape: a tale of land plant FtsZ. *Protoplasma* 254:1879–1885
- Hussey PJ, Ketelaar T, Deeks MJ (2006) Control of the actin cytoskeleton in plant cell growth. *Annu Rev Plant Biol* 57:109–125
- Jones RL, Ougham H, Thomas H, Waaland S (2013) *The molecular life of plants*. Wiley, New York
- Maple J, Moller SG (2007) Plastid division: evolution, mechanism and complexity. *Ann Bot* 99:565–579
- Martin WF, Zimorski V, Weiss MC (2017) Wo lebten die ersten Zellen – und wovon? Frühe Evolution. *Biol in uns Zeit* 47. <https://doi.org/10.1002/biuz.201710622>
- Mathur J (2007) The illuminated plant cell. *Trends Plant Sci* 12:506–513
- Meier I (2007) Composition of the plant nuclear envelope: theme and variations. *J Exp Bot* 58:27–34
- Nick P (2013) Microtubules, and signaling in abiotic stress. *Plant J* 75:309–323
- Pollard TD, Earnshaw WC (2007) *Cell biology*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Zhong R, Ye Z-H (2007) Regulation of cell wall biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol* 10:564–572