

# DEUTSCHE MEDIZINISCHE WOCHENSCHRIFT

Organ der Berliner Medizinischen Gesellschaft und anderer Vereinigungen

Beirat:

H. Eymér, München / A.W. Fischer, Kiel / K. Schneider, München / R. Siebeck, Berlin

Schriftwalter:

A. Rühl / A. Pickhan / K. Klare

VERLAG: GEORG THIEME, LEIPZIG

Vervielfältigung und Verbreitung von Arbeiten aus der „D. m. W.“ sowie deren Verwendung für fremdsprachige Ausgaben nur mit Genehmigung des Verlages gestattet

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité in Berlin und dem Laboratorium für Übermikroskopie der Siemens & Halske A.G., Berlin-Siemensstadt

## Über Grenzfragen aus dem Gebiet der Struktur- forschung und Mikrobiologie\*

Von H. RUSKA

In der jüngst vergangenen Zeit hat die Strukturforschung und Mikrobiologie durch die Entwicklung der **Mikroskopie mit Elektronenstrahlen** einen großen Auftrieb erfahren. Vor nahezu 3 Jahren konnte ich von den ersten Anfängen dieser Forschungen berichten (1).

Inzwischen war es möglich, unser Arbeitsgebiet zu erweitern und in vielen Einzelfragen in Zusammenarbeit mit unserer Klinik, der Biologischen Reichsanstalt, dem Reichsgesundheitsamt, der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel und zahlreichen anderen Instituten zu vertiefen. Da das Haus Siemens im Einverständnis mit dem Reichsforschungsrat trotz des Krieges die Übermikroskopie weiterführen wollte, war es uns dank des großen Entgegenkommens des Generaloberstabsarztes Prof. WALDMANN und dank der Förderung unserer Pläne durch Prof. SIEBECK möglich, die begonnene Arbeit fortzusetzen. Insbesondere hat sich durch die enge Zusammenarbeit mit den Herren KAUSCHE und PFANKUCH und Herrn WOLPERS und dessen Mitarbeitern ein fester Arbeitskreis gebildet. Andere Stellen haben sich ebenfalls sowohl unserer Methoden (2, 3) als auch

\* Vortrag, gehalten am 22. I. 1941 vor der Berliner Medizinischen Gesellschaft. Von den gezeigten Abbildungen ist hier nur ein Teil wiedergegeben, im einzelnen vergleiche man das zitierte Schrifttum. Beim Vortrag wurde außerdem die übermikroskopische Technik durch einen Schmalfilm gezeigt.

unserer Forschungsgebiete (4, 5) angenommen und die Ergebnisse unserer Arbeitsrichtung bestätigt und bereichert.

Bevor wir uns nun mit einzelnen Problemen befassen, will ich versuchen, die neue Art des Präparierens und Mikroskopierens näher zu erläutern. Dazu möchte ich vorausschicken, daß das Siemens-Übermikroskop in seiner derzeitigen Form nahezu das 100fache Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops besitzt (6). Das bedeutet, aus dem linearen Maß ins räumliche übersetzt, daß man unter günstigen Voraussetzungen einen volumenmäßig etwa 1000000mal kleineren Gegenstand als er im Lichtmikroskop erfaßbar ist, im Übermikroskop noch nachweisen kann. Das neue Verfahren arbeitet jedoch nicht mit der gleichen präparativen Technik wie die Lichtmikroskopie, da die Untersuchung im Vakuum erfolgt und nur so dünne Schichten von den Elektronen durchstrahlt werden können, wie sie die lichtmikroskopisch-histologische Technik nicht kennt. Als Objektträger dienen daher auch nicht Glasplättchen, sondern organische Filme aus Kollodium von etwa  $\frac{1}{100000}$  mm Dicke (7).

Es kann vielleicht die Frage erhoben werden, ob es lohnend ist, eine ganz neuartige Technik zu entwickeln, um die Morphologie in kleineren Dimensionen fortzusetzen. Denn gegenüber der Physiologie und Chemie ist das Interesse an der reinen Gestaltforschung in den letzten Jahrzehnten zurückgetreten. Die großen Entdeckungen in der modernen Biologie liegen auf physiologischem Gebiet. Ihre Verfolgung führte schließlich bis zur Reindarstellung, Analyse und Synthese von Fermenten, Vitaminen, Hormonen und anderen Wirkstoffen. Zu Hilfe kam dieser Entwicklung, daß es möglich wurde, in der chemisch-stofflichen Erforschung wenigstens grundsätzlich bis zum molekularen und atomaren Substrat vorzudringen. Im Gegensatz dazu haben wir in der Morphologie, welche die räumliche Zuordnung der stofflichen Elemente festzulegen versucht, keine bis zum letzten Baustein der Materie reichende Vermessungsmöglichkeit. Es dürfte aber die Bedeutung der Morphologie eine andere sein, wenn es gelänge, in der Zelle jedes Molekül nach seiner Lage oder in seinem Verhalten zu erkennen und eine lückenlose Brücke zwischen Morphologie und Chemie der Organismen zu schlagen. Denken wir nur daran, daß auch das Krebsproblem — ganz abgesehen von den zahlreichen durch Virus hervorgerufenen Tiertumoren — sich neuerdings insofern als ein Strukturproblem darzustellen scheint, als nach KÜGEL und ERNLEBEN anormal strukturierte Aminosäuren dem pathologischen Verhalten der krebsig entarteten Zelle zugrunde liegen. Gerade die vielfältige Entwicklung der Struktur gibt dem Belebten gegenüber dem Unbelebten ihr besonderes Gepräge, und je besser wir das morphologische Gefüge erkennen, um so besser werden wir auch die physiologischen und

chemischen Vorgänge verstehen und zur Struktur in Beziehung setzen können. Wir haben uns daher bemüht, die **unmittelbare Erkennung des Feinbaus** einen Schritt weiterzutreiben.

Das folgende Schema (Tab. 1), welches dem grundlegenden Buch von FREY-WYSSLING (8), entnommen und durch ein Schema des Arbeitsbereichs verschiedener Abbildungsgeräte (9) und Größenbestimmungsverfahren erweitert ist, soll Ihnen die **Abgrenzung der Forschungsbereiche und der Forschungsmethoden** in Erinnerung bringen. Wesentlich ist dabei, daß die Begrenzung der Anatomie und Pathologie, die durch die Leistungsgrenze des Lichtmikroskops gegeben war, gefallen ist, und daß wir jetzt unter Umständen bis hinab zu den Molekülgrößen mit einem direkten geometrisch-optischen Abbildungsverfahren sehen können. Die Frage, was dabei denn Entscheidendes aufgedeckt werden könne, ist, da wir immer noch ganz im Beginn dieser neuen Entwicklung stehen, sicherlich verfrüht. Aber soviel läßt sich heute schon übersehen, daß eine große Zahl seit Jahrzehnten schwebender Fragen, die ungelöst bleiben mußte, weil die Leistungsfähigkeit des Lichtmikroskops versagte, endlich gelöst werden kann. Dadurch können aus lange gehegten Vermutungen gesicherte Tatsachen, aus fraglichen Übergängen klare Abgrenzungen und schließlich aus neuen Beobachtungen Ergebnisse und Ausblicke entstehen, die Morphologie, Physiologie und Chemie immer enger verbinden.

Ich will jetzt versuchen, Ihnen auf Grund unserer **experimentellen Ergebnisse** einige **Probleme der Strukturfor-**schung und deren **Zusammenhänge** mit Fragen auf dem Gebiet der **Mikrobiologie** und der **Virusforschung** zu erläutern. Dabei möchte ich mit jenem **Strukturgebilde** anfangen, an dem die Synthese der organischen Substanzen beginnt, nämlich am **Chlorophyllkorn** der kohlen säure-assimilierenden Pflanzenzelle und von da einerseits auf andere **Strukturfragen** übergehen, andererseits über die **Pflanzenviren**, die ihren Ausgang am Chloroplasten zu nehmen scheinen, auf das Gebiet tierpathogener Krankheits-erreger.

Der grüne Blattfarbstoff ist bekanntlich in der Pflanzenzelle nicht diffus verteilt, sondern an die bereits genannten **Chloroplasten** gebunden. Die Chloroplasten, die in den Zellen neben dem Kern entlang der Zellwand zu sehen sind, stellte man sich ursprünglich als Bläschen mit einem flüssigen Inhalt von gelöstem Chlorophyll vor, in welchen durch die Energie der Lichtstrahlen die Synthese von Zucker und Stärke aus der Kohlen säure der Luft erfolgt. Indessen gelang es in den letzten Jahren,

Morphologische Hierarchie	Größenordnung	Abbildungsgesetze und Auflösungsgrößen	Maßstäbe	Indirekte Untersuchungsmittel	
				Optische	Nichtoptische
Organlehre Organographie Gewebelehre Histologie	1 mm	Auge ohne Hilfsmittel	Millimetermaß		Sedimentation
	100 $\mu$	Lupe	Mikrometer		
Zellenlehre Zytologie	1 $\mu$	Lichtmikroskop	Wellenlänge des Lichts Bruchteil der Wellenlänge des Lichts	Polarisationsmikroskop	Zentrifuge
	100 m $\mu$	Ultraviolettmikroskop			Filtration
Feinbaulehre Mizellarlehre	10 m $\mu$	Übermikroskop	Wellenlängen der Röntgenstrahlen	Ultramikroskop	Ultrafiltration
	1 m $\mu$	-----			Ultrazentrifuge
Molekülbaulehre Strukturchemie Atombaulehre Elektronentheorie	(1 Å) 100 $\mu\mu$		Wellenlängen der Elektronenstrahlen	Röntgenbeugungs- diagramm	Dialyse
	10 $\mu\mu$				
	1 $\mu\mu$				

TABELLE I. Das Reich der Morphologie

in Bestätigung älterer Beobachtungen endgültig nachzuweisen, daß der Chloroplasteninhalt nicht homogen ist, sondern aus feinen Körnern (Grana) und einer Zwischensubstanz (Stroma) besteht. Aus den polarisationsoptischen Erscheinungen der Formdoppelbrechung wurde außerdem von MENCKE auf eine Schichtenstruktur geschlossen. Die Fabrikationszentren der Stärke mußten danach einen Feinbau aufweisen, an dem die Absorption der Lichtenergie und der Aufbau des Zuckers in enger Bindung an eine ganz bestimmte Zellstruktur erfolgt.

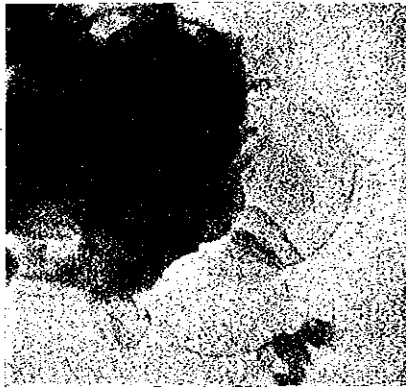


Abb. I

787,40

Rand eines aus der Zelle isolierten Chloroplasten der Tabakpflanze mit mehrfach übereinanderliegenden „Scheiben“. El. opt.: 10000:1

Für das wohl allgemein gültige Gesetz, daß die Steuerung der chemischen Reaktionen in der Zelle durch die Bindung der Reaktion an bestimmte Strukturen erfolgt, war der Chloroplast ein Studienobjekt von besonders weittragender Bedeutung. Es ist nun gelungen, die Struktur des Chloroplasten weiter aufzuklären und wahrscheinlich zu machen, daß außer der Synthese des Zuckers auch die Synthese der Virusproteine in den Chloroplasten stattfindet, also die Synthese jener hochmolekularen Eiweißkörper, die bei zahlreichen Pflanzenkrankheiten die Rolle eines Infektionserregers spielen.

Abb. 1 stellt einen Chloroplasten aus der Tabakpflanze dar, der in den wenig durchstrahlbaren Innenteilen Grana und Stroma zeigt und an dem sich runde Scheiben, die den Chloroplastenrand überragen und sein Inneres durchsetzen, als neues selbständiges Formelement nachweisen lassen (10).

Vorher hatte man die Schichtstruktur, die aus dem polarisationsoptischen Verhalten bereits indirekt erschlossen war, entweder als Eigenstruktur der Grana aufgefaßt oder in einer schichtenweisen Anordnung von Grana und Stroma selbst vermutet. Diese Beobachtung ist methodisch insofern von grundsätzlicher Bedeutung, als sie zeigt, wie wichtig trotz ausgezeichnete indirekter Vermessungsmöglichkeiten

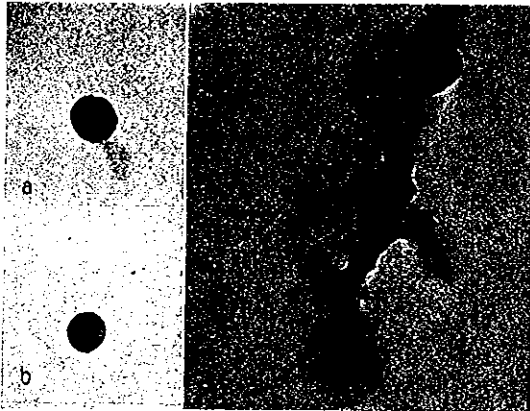


Abb. 2 703/40, 704/40, 763/40  
Grana, Stroma und Virusprotein-Moleküle aus Chloroplasten der Tabakpflanze. a) gesunde, b) und c) kranke Pflanze. El. opt.: 19000:1

die direkte Beobachtung sein kann. Für die weitere Verfolgung der Frage nach dem Aufbau und der Funktion der Chloroplasten gibt sie uns wichtige Hinweise, in welcher Richtung die morphologische und chemische Aufklärung und die theoretische Deutung des an die Feinstruktur gebundenen endothermen Vorgangs der Zuckersynthese in der Pflanze weiter verfolgt werden muß.

Die Grana kann man aus dem Chloroplasten isolieren und neben ihnen bei viruskranken Pflanzen einzelne stäbchenförmige Virusproteinmoleküle finden (Abb. 2). Diese scheinen, wie das Teilbild rechts zeigt, auf dem Körner noch im Zusammenhang mit der Zwischensubstanz zu sehen sind, direkt in Verbindung mit dem Chloroplastenstroma zu entstehen (11). Der Chloroplast wird damit zum Sitz des pathologischen Prozesses innerhalb der Zelle, wie im größeren Bereich die Zelle innerhalb des kranken Organs. Schon aus

dem makroskopischen Symptomenbild der pflanzlichen Virosen waren solche Zusammenhänge zu vermuten. Zeigt sich doch der Virusbefall der Pflanze an leicht sichtbaren Verschiebungen des Chlorophyllgehalts der Blätter und einer dadurch hervorgerufenen eigenartigen Blattmusterung, die der ganzen Krankheitsgruppe den Namen Mosaikkrankheiten eingebracht hat. Die Störungen in den Assimilationsorganen der Pflanze geben den Viruskrankheiten neben der

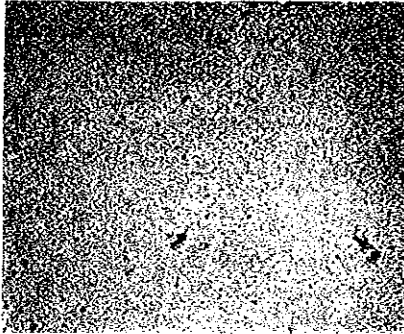


Abb. 3

1984/40

Moleküle des p-Jodbenzoylglykogens, aufgetrocknet aus einer Lösung in Chloroform. El. opt.: 14000:1

wissenschaftlichen eine große wirtschaftliche Bedeutung, weil durch einen Verlust an assimilierter Substanz in unserer Landwirtschaft jährlich Millionenwerte ausfallen.

Stärkemoleküle, deren Synthese bekanntlich ebenfalls an Chloroplasten erfolgt, lassen sich bis jetzt noch nicht morphologisch nachweisen. Nur die Abbildung der Moleküle der tierischen Stärke, also des Glykogens, ist bisher gelungen, da diese besonders hohe Molekulargewichte erreichen. Durch eine Art „Färbung“ mit Jod sind sie kontrastreicher gemacht (12) und lassen sehr gut erkennen, daß sie im Gegensatz zu den Stärkemoleküfchen der Pflanze nicht verzweigt kettenförmig, sondern kugelig gebaut sind, wie durch die übermikroskopischen Abbildungen endgültig bewiesen wurde (Abb. 3).

Die Abgrenzung der Chloroplasten gegenüber dem Protoplasma der Zelle ist nicht durch eine Grenzschicht oder eine Membran scharf bestimmt, vielmehr erscheinen diese als offene Gebilde, die den Austausch der Stoffe zum übrigen Zellplasma ohne Schranken zulassen. Die Frage nach der Existenz oder dem Fehlen solcher Grenzschichten, die eines

der zentralen Probleme des Stoffaustauschs ist, wird uns später noch in einem anderen Zusammenhang beschäftigen. Die Teilbarkeit und Eigenbewegung der Chloroplasten ist gut, ohne eine solche Grenzschicht aus einer gegenseitigen Verschiebung der einzelnen Bauelemente zu verstehen.

Auch das Problem des Baues der Mitochondrien tierischer Zellen läge hier nahe zu erörtern, da an diese, wie an den Chloroplasten, besondere chemische Zellbestandteile und



Abb. 4

II 122/39

Feinstruktur des Fibrins. Fibrin aus Heparinplasma 34 Std. nach der Blutentnahme fixiert. Am rechten oberen Bildrand Fibrinbündel mit Parallelstruktur. Im unteren Teil ein aufgefasertes Mizellbündel. Protoplasmaarmes Blutplättchen mit herausgezupften Granulationen. El. opt.: 9000:1

besonders spezialisierte Funktionen gebunden sind. Die Erforschung der Mitochondrienstruktur ist indessen infolge der sehr viel weniger einheitlichen Aufgaben und der großen Unterschiede dieser Gebilde untereinander mit größeren Schwierigkeiten verknüpft (13).

Durch die Polarisationsmikroskopie, welche neben dem Verfahren der Aufnahme von Röntgenbeugungsdiagrammen das bedeutsamste Mittel der indirekten Strukturforschung darstellt, sind außer der Schichtenstruktur der Chloroplasten auch andere gesetzmäßig sich wiederholende sogenannte sublichtmikroskopische Strukturen erforscht worden (14). Und zwar handelt es sich im folgenden nicht um dünne scheibenförmige, sondern um feine stäbchenförmige Elemente, die sich insbesondere bei Gerüstsubstanzen der verschiedensten Herkunft nachweisen ließen. Ihr Vorhanden-



sein ist darin begründet, daß der Aufbau vom organischen Einzelmolekül bis zum lichtmikroskopisch sichtbaren Bereich nicht homogen erfolgt, sondern unter Bildung besonderer Zwischenglieder, deren Größen einerseits über der Molekülgröße, andererseits unter der direkten lichtmikroskopischen Wahrnehmbarkeit liegen. Man nennt diese Bausteine, die man z. B. besonders schön im Blutgerinnsel fest-



Abb. 5

2447/40

Teilquerschnitt durch Zellwolle (Duraflox). Der Durchmesser des ganzen Zellwollfadens beträgt im Mittel  $15\mu$ . El. opt.: 18000:1

stellen kann, Mizellen. Der Ausdruck Mizelle hat mit dem Wort Zelle oder Mikrozele nichts zu tun, sondern ist vom lateinischen mica = die Krume abgeleitet und bedeutet also ein kleines Teilchen.

Die Entstehung der Mizelle beim Blutgerinnungsvorgang (15) müssen wir uns so vorstellen, daß zahlreiche Fibrinmoleküle, deren kleinster Durchmesser unterhalb des Auflösungsereichs des Übermikroskops liegt, sich unter dem Einfluß unbekannter Kräfte parallel aneinander lagern und miteinander verbinden, bis sie die Größe der hier sichtbar gewordenen mizellaren Bausteine erreichen (Abb. 4). Die Fibrinmizellen vereinigen sich untereinander wieder zu den aus der Lichtmikroskopie bekannten Fasern oder mit den Blutplättchen bis zur Bildung des festen Fibringerinnsels. Die Blutplättchen leiten ihrerseits durch einen mit ihrer Funktion eng verbundenen Zerfall den Gerinnungs-

vorgang ein. Das Plättchenprotoplasma bildet Fortsätze und Blasen und zerfällt, bis nur noch das sogenannte Granulomer zurückbleibt, welches dem Fibrinnetz als Haftkörper dient. Dabei lassen sich ohne Zuhilfenahme von Färbeverfahren die Protoplasmafortsätze der Blutplättchen und die Fibrinfasern auf Grund ihrer verschiedenen Struktur elektronenoptisch leicht unterscheiden.

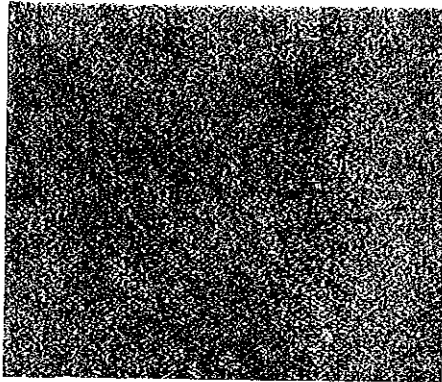


Abb. 6

2641/40

Mizellarstruktur aus der Sekundärwand eines durch Salzsäure abgebauten Baumwollhaares. El. opt.: 18000:1

Physiologie und Pathologie der Gerinnung können auf dem eingeschlagenen Weg, der die enge Verknüpfung zwischen Strukturumwandlung und Funktion sinnfällig vor Augen führt, bezüglich des Zerfalls und der Neubildung von Struktur besonders weit verfolgt werden. Die strenge Gesetzlichkeit, deren höchste Vollendung wir in der anorganischen Natur aus der Bildung der Kristalle kennen, herrscht auch hier in der organischen Natur in einem gewissen Grade, und es kann die Orientierung der Moleküle in dem festen Gefüge des Fibrins wahrscheinlich auch noch vollkommener werden als im Blutgerinnsel, und auf diese Weise die von uns gefundene Querstreifung des Liquorfibrins erklären (16). Man muß, wenn man diese eigenartigen Bilder sieht, daran denken, daß die Querstreifung dadurch hervorgerufen wird, daß die Moleküle infolge der verlängerten Bildungszeit des Liquorgerinnsels nicht nur parallel gebündelt, sondern auch quer zur Faserrichtung

geordnet sind, sodaß sie mit ihren Enden in gemeinsamen Schichtebenen liegen.

Auch Gerüstsubstanzen pflanzlicher Herkunft haben einen mizellaren Aufbau. Insbesondere ist er bei der Zellulose seit langem bekannt und im Hinblick auf die Zusammenhänge zwischen Eigenschaften und Struktur der Zellulosefasern Gegenstand vieler Untersuchungen gewesen. Wie bei

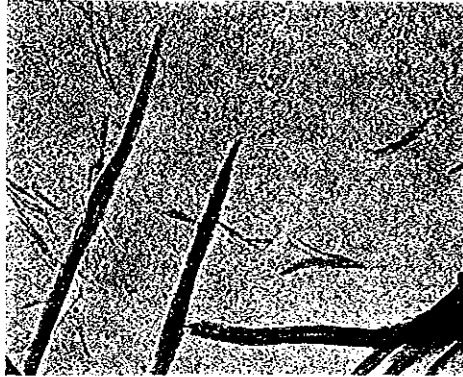


Abb. 7 II 992/39  
„Kristallisiertes“ Tabakmosaik-Virusprotein. El. opt.: 16000 : 1

dickeren Fibrinfasern ist hier die Packung der Mizellen in der Randzone so dicht, daß der Aufbau, wenn wir von der Schaumstruktur gewisser Zonen des Faserkerns absehen, homogen erscheint (Abb. 5) (17). Durch vorsichtige Hydrolyse gelingt es indessen, die Zellulosemizellen freizulegen und eine Fadenstruktur zur Darstellung zu bringen, die noch feiner ist als die bisher gesehene des Fibrins (Abb. 6) (18).

Die zu Anfang neben den Chloroplasten gezeigten Moleküle des Tabakmosaikvirusproteins neigen unter bestimmten physikalisch-chemischen Bedingungen ebenfalls zu einer Art Mizellbildung. Diese kann so weit fortschreiten, bis lichtmikroskopisch sichtbare sogenannte **Viruskristalle** entstehen (Abb. 7). In den Kristallen sind die Moleküle, die man hier häufig einzeln erkennen kann, parallel gerichtet, wie wir es beim Blutfibrin schon vermutet haben. Die Moleküle liegen aber nicht in einheitlichen, einem voll ausgebildeten Kristallgitter entsprechenden Schichtebenen, sondern gegeneinander versetzt, sodaß man, streng genommen, nur von **para-kristal-**

linen Gebilden sprechen kann (19). Wie hier, dürfte auch bei zahlreichen anderen kristallin erscheinenden organischen Gebilden die Ordnung der Moleküle nicht den hohen Grad der Kristalle erreichen. Die Kristallinterferenzen, welche sich mit Röntgenstrahlen am pflanzlichen Virus nachweisen

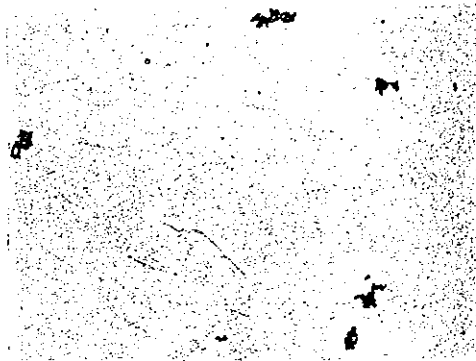


Abb. 8

II 1044/39

Moleküle des Tabakmosaik-Virusproteins und kolloides Gold als reaktionsloses Gemisch. El. opt.: 16000 : 1



Abb. 9

II 1060/39

Blaue „Schwebeflockung“ des aggregierten Goldes ohne Beziehung des Goldes zum aggregierten Virus. El. opt.: 16000 : 1

lassen, beruhen nicht auf der Ordnung der einzelnen Moleküle zu einem Kristall, sondern darauf, daß das einzelne Molekül selbst einen sehr kleinen Kristall darstellt (sog. Kristallmoleküle).

Außer über Strukturen geben unsere Abbildungen auch über Reaktionen Aufschluß. Dabei war uns wieder das

pflanzliche Virusprotein ein wertvoller Modellkörper, und zwar für die Deutung des Mechanismus der Langeschen Goldsolreaktion, die zur Charakterisierung verschiedener Eiweißstoffe verwendet wird.

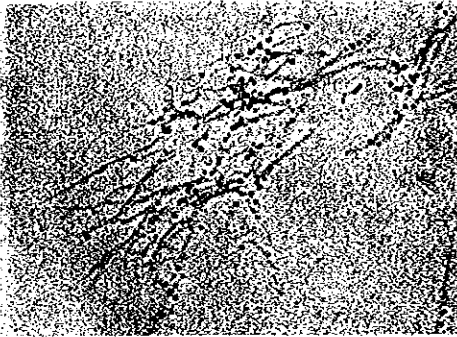


Abb. 10

II 1122.39

Rotflockung durch Adsorption primärer Goldteilchen an lockere Tabakmosaik-Virusaggregate. El. opt.: 15000 : 1

Nach G. A. KAUSCHE (20) kann man mit dem pflanzlichen Virusprotein, wie mit dem Liquoreiweiß in der Medizin definierte Reaktionsformen erhalten, die es erlauben, Unterschiede

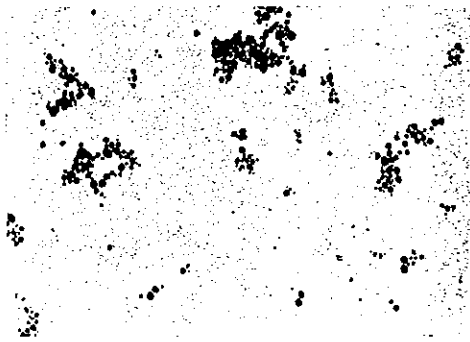


Abb. 11

1437.40

LANGESCHE Goldsolreaktion mit Liquor cerebrospinalis, 4. Röhrchen von einem Liquor bei Meningitis. El. opt.: 32000 : 1

der Virusproteine unabhängig von ihrer pathogenen Wirkung im Reagenzglas festzustellen. Das rote Goldsol verändert sich nach Viruszusatz je nach Salzgehalt und Wasserstoffionenkonzentration des Mediums und nimmt zwischen Rot und Blau liegende Farbönungen an oder fällt aus der Lösung aus. Was dabei geschieht, zeigen die folgenden Abbildungen im ein-

zelen (21). Solange keine Reaktion eintritt (Abb. 8), sieht man die kolloiden Goldteilchen einzeln oder zu Gruppen gelagert als dunkle Punkte zwischen den stäbchenförmigen Viruspartikeln. Je nach den Versuchsbedingungen kann nun unter Blaufärbung das Gold mit Gold zusammenreten, größere Aggregate bilden und ausfallen oder es kann bei Anwesenheit von Virus auch Gold mit Gold und Virus mit Virus aggregieren, wobei die blaufärbenden Goldteilchen durch die Virusproteine in Schwebelage gehalten werden (Abb. 9). Schließlich kann auch

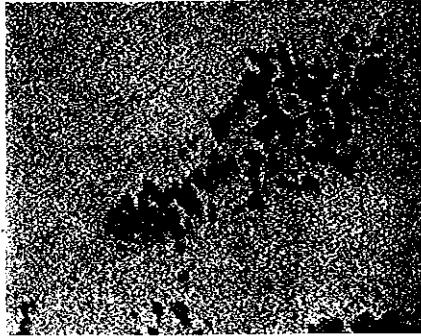


Abb. 12

131/40

LANGESCHE Goldsolreaktion mit Liquor cerebrospinalis, 1. Röhrchen von einem Liquor bei Paralyse. El. opt.: 15 000 : 1. Abbildung 30 000 : 1

das Gold mit dem Virus zusammentreten, sodaß sich die einzelnen Goldkolloidteilchen in Abständen auf das fadenförmige Virusprotein setzen und eine rote Ausflockung entsteht (Abb. 10).

In ähnlicher Weise ließen sich auch die Vorgänge bei der Goldsolreaktion des Liquor cerebrospinalis klären (22), wobei man die einzelnen Eiweißmoleküle allerdings nicht in dieser schönen Weise sieht, weil sie sehr viel kleiner sind als die Moleküle des Virusproteins. Auch ist daran zu erinnern, daß die wechselnden Formen dieser Reaktion nicht durch den verschiedenen Salz- oder Wasserstoffionengehalt zustande kommen, sondern nur durch die abnehmenden Mengen des zugesetzten Liquoreiweißes oder deren qualitative Unterschiede.

Die entstehenden Aggregate von Eiweiß und Goldsol zeigen hier insofern einen anderen Typus der Aneinanderlagerung, als nicht die Goldteilchen einzeln und voneinander getrennt auf dem Proteinmolekül sitzen, wie bei den Bildern vom Tabakmosaikvirusprotein, sondern umgekehrt die Liquorprotein-

teilchen die Oberflächen des Goldkolloids besetzen und viele Goldteilchen zu größeren Aggregaten verkleben. Neben einer Abbildung (11) mit beginnender Aggregatbildung bei rotvioletter Verfärbung des Reaktionsgemisches, zeigt Ihnen die nächste Abbildung (12) ein größeres Aggregat bei blauvioletter Reaktionsfarbe, bei dem einzelne Goldteilchen abgesprungen sind, während die Eiweißschale als ein Ring am Trägerfilm haften blieb, der im Bild noch sichtbar ist.

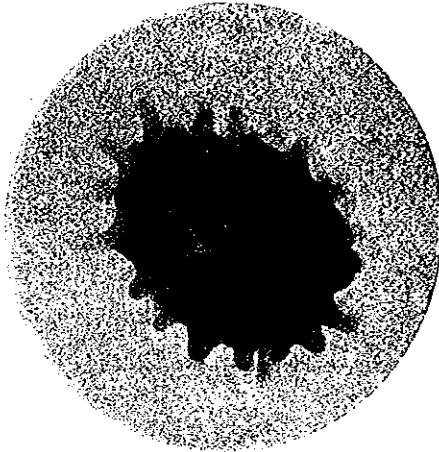


Abb. 13

4449/40

Stechapfelform eines roten Blutkörperchens. El. opt.: 10000 : 1

Das Studium der isolierten pflanzlichen Viren und der pflanzlichen Virosen, auf die wir hier immer wieder zu sprechen kommen, ist indessen nicht, wie es scheinen könnte, nur für die Pflanzenpathologie, sondern auch für die humane Medizin von großer Bedeutung. Sie wissen, daß das Wesen des Virus heute mehr umstritten ist denn je, und daß es weder morphologische noch biologische oder chemische Kriterien gibt, die allgemein als kennzeichnend für alle Viren und damit als Grenze zwischen diesen und anderen Infektionserregern anerkannt wären. Zwar lassen sich die Viren nur innerhalb lebender Zellen zur Vermehrung bringen, aber diese Besonderheit teilen sie mit anderen nicht zu den Viren gehörenden parasitären Mikroorganismen. Fragen wir deshalb zunächst nicht nach den Besonderheiten des Virus, sondern nach den allgemein morphologischen Merkmalen jener Erreger, die als die bakteriellen Mikroben

bezeichnet werden. Denn zu diesen sind die Viren nach Ansicht vieler Forscher sozusagen als Mikro-Mikroben in Beziehung zu setzen, oder sie müssen gegen sie abgegrenzt

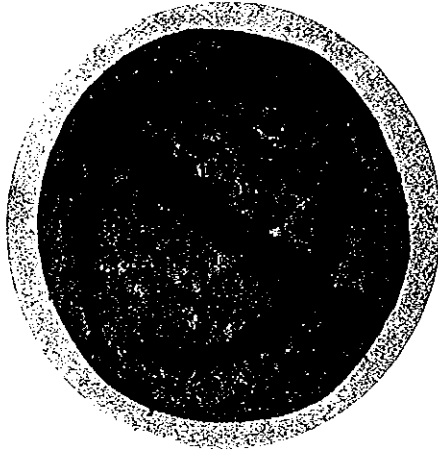


Abb. 14 4413/40  
Partiell hämolysiertes rotes Blutkörperchen. El. opt.: 9000 : 1



Abb. 15 4899/40  
Gerissene Membran eines völlig hämolysierten roten Blutkörperchens.  
El. opt.: 8000 : 1

werden. Wenn wir dabei von der schwierigen Frage, ob die Bakterien einen Kern oder ein Kernäquivalent besitzen, absehen, so charakterisiert sie der Besitz einer **Membran** und eine in Abhängigkeit von den Ernährungsbedingungen



wechselnde Innenstruktur. Sie haben also Baueigentümlichkeiten, die sie mit höher organisierten Zellen teilen. Beides finden wir bei den Pflanzenviren nicht, und wir haben Grund zu der Annahme, daß dies nicht etwa darauf zurückzuführen

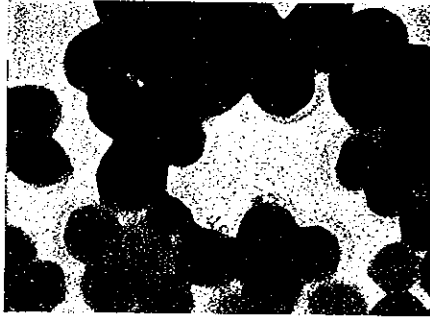


Abb. 16

4816 40

Staphylokokken mit deutlich erkennbarer Membran. El. opt.: 12000 : 1

ist, daß eine Membran und ein Innenbau beim Pflanzenvirus aus optischen Gründen nicht mehr erkennbar ist. Wir wissen aus den Röntgenstrahlinterferenzen, daß nicht die



Abb. 17

288 41

Coili-Bakterien mit künstlich abgelösten Membranen. El. opt.: 12000 : 1

vorhin gezeigten Viruskristalle, wohl aber die einzelnen Proteinmoleküle des Virus in der Anordnung der Eiweiß- und Nukleinsäureanteile so gesetzmäßig gebaut sind wie echte Kristalle. Deswegen werden wir nicht erwarten, daß diese vom Aufbau einer Zelle grundsätzlich abweichenden Gebilde Membranen wie die Bakterien besitzen.

Wir verstehen unter einer Membran dabei flächenhaft ausgedehnte Gebilde, die sowohl eine beiderseitige, scharfe morpho-

logische Grenze, als auch einen vom eingeschlossenen Inhalt chemisch und strukturell differenzierten Aufbau besitzen. Im Gegensatz dazu ist ein Plasmahäutchen lediglich eine verdichtete Oberflächenschicht des Protoplasmas, während als **Grenzschicht** die Grenzfläche zweier verschiedener Phasen bezeichnet wird.

Zunächst will ich solche **Membranen** an sehr viel größeren Zellen zeigen, bei denen die Diskussion über das Vorhandensein oder Fehlen einer Membran trotz zahlreicher Bemühungen um eine Entscheidung der Frage noch immer

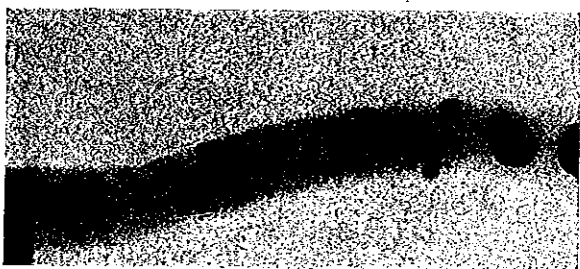


Abb. 18

II 434/39

Bezillus der Hühnertuberkulose mit reicher Entwicklung von Granulationen  
El. opt.: 26000 : 1

nicht zum Abschluß gekommen ist, und zwar an **menschlichen Erythrozyten** (23). Die intakte Zelle und die Stechapfelform (Abb. 13) lassen nicht erkennen, wie die Begrenzung der Zelloberfläche ausgebildet ist. Verfolgt man jedoch den Verlauf der osmotischen Hämolyse, so sieht man eine faltenbildende Haut in Erscheinung treten, die nur als Zellmembran gedeutet werden kann (Abb. 14). Die Falten überschneiden sich dabei in den beiden, der dem Betrachter zugewendeten und der von ihm wegwendeten Schicht, ohne sich gegenseitig zu beeinflussen, woraus mit Sicherheit auf eine sackartige Umhüllung zu schließen ist. Der Austritt des Hämoglobins erfolgt durch die Membran ohne Reißbildung. Nur in einem ganz vereinzelt Fall, den wir als Artefakt betrachten, haben wir eine geplatzte Membran gefunden (Abb. 15).

Entsprechend der geringeren Größe des Objekts ist die **Membran der Bakterienzelle** sehr viel dünner, und wir haben auch bei den ersten Untersuchungen über diesen Gegenstand noch nicht sicher zu entscheiden gewagt, ob die Bakterien

in jedem Falle von einer Membran umgeben sind. An Zellen aus jungen Kulturen kann man wie an intakten Erythrozyten keine Membran nachweisen. Mit dem Altern der Kultur entwickeln sich dann aber Zellformen, die dadurch, daß eine Art Plasmolyse eingetreten ist, besonders an ihren Enden eine Membran erkennen oder wenigstens vermuten lassen (24). Der gleiche Nachweis läßt sich auch bei älteren Kokken erbringen (Abb. 18), und in jüngster Zeit ist es uns

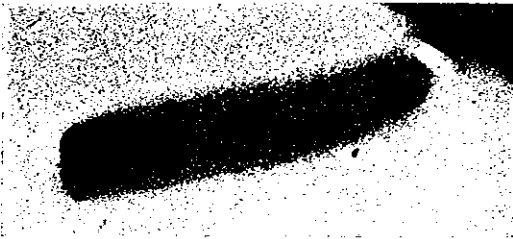


Abb. 19 II 838,39  
Bazillus der Hühnertuberkulose mit spärlicher Entwicklung  
von Granulationen. El. opt.: 14000 : 1. Abbildung: 28000 : 1

gelingen, auch bei Zellen aus jungen Kulturen durch eine einfache Maßnahme die Membran regelmäßig zur Darstellung zu bringen (Abb. 17). Bringt man nämlich durch Erhitzen auf 60° oder auch durch Kochen das Zellplasma zur Koagulation, so trennt sich dieses innerhalb der Zelle von der Membran oder die Membran platzt völlig ab und läßt in gleicher Weise typische Faltenbildungen erkennen, wie ich sie schon am roten Blutkörperchen gezeigt habe.

Die verschiedenartigen Innenstrukturen konnten auf den Bakterienbildern am Unterschied zwischen jungen und älteren Colikeimen gezeigt werden. Tuberkelbazillen zeigen andersartige Abweichungen in besonders deutlicher Ausprägung (Abb. 18), insofern der Granulagehalt der Zelle stark wechselt (Abb. 19) (25). Es zeigen aber nicht nur diese, sondern auch andere Bakterien und Kokken in gewissen Entwicklungsstadien, den Granula der Tuberkelbazillen wahrscheinlich entsprechende Gebilde, die sich durch eine große Empfindlichkeit gegenüber der Bestrahlung mit Elektronen auszeichnen. Genauer darauf einzugehen und auf die möglichen Beziehungen dieser Gebilde zu Kernäquivalenten und zu den Bakteriophagen (26), würde zu weit führen.

Die vorgeführten Struktureigentümlichkeiten der bakteriellen Mikroben fehlen nicht nur dem pflanzenpathogenen, sondern auch dem tierpathogenen Virus. Jedenfalls sind unsere Bemühungen, den Nachweis zu führen, daß große tierpathogene Viren etwa wie Kokken gebaut sind, bisher vergeblich gewesen. Die Elementarkörper erscheinen membranlos und in ihrem Innern gleichmäßig dicht. Auch mit verschiedenartigen Kunstgriffen, die die Membran der Bakterien zur Darstellung bringen, ist uns der morphologische Nachweis einer Virusmembran nicht

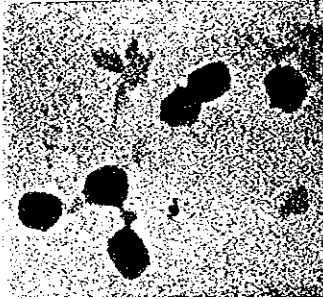


Abb. 20 II 37/39  
Vakzine-Virus. El. opt.: 23000 : 1

gelingen. Der von anderen Autoren (27) aus den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Vakzinevirus gezogene Schluß, daß das Vakzinevirus keine oberflächliche Membran besitzt, besteht danach offenbar zu Recht. Sofern man Innenstrukturen in großen Elementarkörpern zu sehen vermeint, ließ sich bisher immer zeigen, daß es sich um Teilchen handelte, die dem Virus von seiner Gewinnung her noch von außen anhaften. Was darüber hinaus auffällt, ist der Umstand, daß zahlreiche der zu den großen Viren gehörenden Erreger eine von der Kugelform abweichende charakteristische Gestalt besitzen. Wahrscheinlich ist es mehr als ein Zufall, daß die Erreger so verschiedenartiger Krankheiten wie der Variola (Abb. 20), des Kaninchennyxoms (Abb. 21) und der Ektromelie der Maus (Abb. 22) eine Quaderform mit mehr oder weniger abgerundeten Ecken besitzen.

Allerdings haben die Erreger ein Gemeinsames, sie sind nämlich alle aus infiziertem Epithel gewonnen, und falls man die Meinung jener Forscher teilt, daß die epithelialen Einschlusskörper eine besondere Form von intrazellulären Viruskolonien seien, könnte man auf den Gedanken kommen, daß die kubische Form durch eine sehr dichte Aneinanderpressung der Erreger, also der Elementarkörper, im Einschlusskörper entsteht. Wir haben daher das Virus aus solchen Organen isoliert, in denen

keine Einschlußkörper mit Sicherheit bekannt sind, wie z. B. bei der Ektromelie aus der Leber, und auch hier haben wir die kubische Form wiedergefunden. Wir glauben daher, daß diese Form eine tiefere Ursache hat und suchen sie in der inneren Struktur des Virus, wie sie JANSSEN (28) ganz allgemein für Eiweißkörper entwickelt hat. Danach sollen nämlich die Aminosäuren in den Proteinen nach ganz bestimmten Gesetzen so angeordnet sein, daß kubisch-prismatische Formen entstehen. Indessen fehlt für den Zusammenhang zwischen äußerer Form

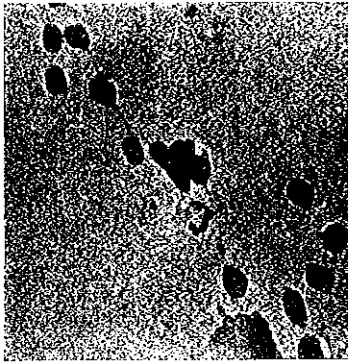


Abb. 21 5150/40  
Virus des Kaninchenmyxoms. El. opt.: 12000 : 1

und innerer Struktur der quaderförmigen Viren noch der letzte Beweis, der im Auffinden von Röntgen- oder Elektroneninterferenzen bei tierpathogenem Virus zu finden wäre. Die Beobachtungen geben uns aber einen Fingerzeig, in welcher Richtung weiterzuforschen ist, und fordern dazu auf, das Problem Protein oder Lebewesen außer von der morphologischen auch von der chemischen und physikalisch-chemischen Seite zu verfolgen.

Bei den Pflanzen haben wir uns über den Vermehrungs- oder Bildungsvorgang der Viren an Hand der Chloroplastenbilder bereits eine gewisse Vorstellung machen können. Danach werden die Virusproteine unter den von uns gewählten Bedingungen bei der Tabakpflanze am Chloroplasten synthetisiert und treten dann in das Protoplasma der Zelle über. Bei den Viren im tierischen Organismus besteht das ungelöste Problem, welche Beziehungen die epithelialen Einschlußkörper zu den in anderen Zellen vorhandenen gut erkennbaren Virusanhäufungen haben. Diese werden ganz allgemein als Viruskolonien angesehen, die nun nicht im Epithel,

sondern im Unterhautgewebe liegen. Die genaue Lokalisation — oft im perivaskulären Gewebe — gelang uns, weil das Virus nicht nur im Ausstrichpräparat, sondern auch im Schnitt gefärbt wurde und so die Topographie der Teile erhalten blieb.

Neben dem Problem der Struktur und Form der einzelnen Elementarkörper ist zweifellos jenes der Vermehrung das bedeutsamste. Gerade dieses macht ja die große

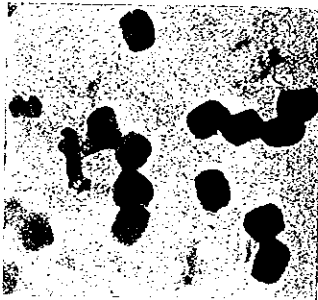


Abb. 22 6033/40  
Virus der Ektromelie der weißen Maus gefärbt mit Viktoriablau)  
El. opt.: 19000:1

Schwierigkeit, falls wir uns vorstellen müssen, daß es außer belebten auch unbelebte Infektionsstoffe, wie die pflanzlichen Virusproteine, gibt. Daß diese Proteine die Krankheitserreger sind, ist allerdings nicht völlig unbestritten geblieben, aber gerade durch ihre Abbildung ist es möglich geworden, nachzuweisen, daß die Zahl der Proteinmoleküle mit der Zahl der infektiösen Einheiten übereinstimmt, und daß die Viruspräparate außer dem Virusprotein keine anderen substantiellen Anteile enthalten. Wir haben im pflanzlichen Virusprotein kein autonomes Lebewesen vor uns, sondern ein besonders gebautes, hochmolekulares Zellprodukt, dessen Eindringen in eine gesunde Zelle wiederum eine pathologische Synthese des gleichen Produkts verursacht. Wenn es wirklich tierpathogene Viren gibt, deren Wesen so zu deuten ist wie jenes der pflanzlichen Virusproteine, so muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß sich das Virus in der Zelle nicht wie ein Mikroorganismus vermehrt, sondern, wie BEIJERINCK (29) schon vor 50 Jahren sagte, daß

es als Infektionsstoff, um sich zu reproduzieren, in das lebende Protoplasma der befallenen Zelle einverleibt werden muß und in dessen Vermehrung sozusagen passiv mit hineingeschleppt wird.

Allerdings ist der Gedanke, daß es unter dem Bilde der Infektionskrankheiten verlaufende Erscheinungen von so völlig anderer Genese geben soll, für den Kliniker zunächst befremdend, weil unser Denken durch die großen Erfolge der klassischen Bakteriologie in ganz bestimmten Bahnen festgelegt ist. Bevor jedoch die Vorstellung vom belebten Infektionsstoff sozusagen zur Alleinherrschaft kam, war es möglich, auch andersartige Hypothesen zu erörtern. Wir müssen uns daran erinnern, daß die **Symptomatologie der Infektionskrankheiten** vorwiegend der **Ausdruck toxischer und allergischer Vorgänge** ist, wobei es zunächst belanglos ist, ob belebte oder unbelebte Allergene die krankmachenden und krankhaften Reaktionen verursachen. Da ein belebter Organismus und auch eine noch so kleine Mikrobenzelle immer aus einer größeren Zahl von Molekülen besteht, ist es aus Gründen des Raumbedarfs, der von einer Vielzahl verschiedenartiger Moleküle beansprucht wird, nur schwer vorstellbar, daß es sich bei den kleinsten Viren um Elementarorganismen handelt. Wenn wir trotzdem an dem Gedanken festzuhalten versuchen, daß auch die kleinsten Infektionserreger, wie die der Maul- und Klauenseuche, des Gelbfiebers, der Poliomyelitis und viele andere Lebewesen sind, so kommen wir an der Schwierigkeit nicht vorbei, daß es Lebewesen gibt, die kleiner sind als die größten einzelnen Moleküle. Die Tatsache, daß die gegenüber Bakterien wirksamen Desinfektionsmittel und Chemotherapeutika zum großen Teil unwirksam gegenüber den Viren sind, legt es ebenfalls nahe, sie außerhalb der bakteriellen Mikroorganismen und der diesen noch verwandten Rickettsien und Bartonellen zu stellen.

Bei der Frage nach dem Wesen des Virus befinden wir uns -- ganz abgesehen von dem weiteren Problem, ob die Viruskrankheiten eine in sich geschlossene Erscheinungsgruppe darstellen -- noch ganz im **Anfang unserer Erkenntnisse**. So viel müssen wir aber doch klar herausstellen, daß

wir seit der ersten Reindarstellung der pflanzlichen Virusproteine durch STANLEY nicht mehr ausschließlich mit der Existenz belebter Infektionserreger rechnen können. Wir haben auf der einen Seite Mikroben mit allen Merkmalen des Zellaufbaus und andererseits Makromoleküle, die typische Röntgeninterferenzen geben und daher eine Kristallstruktur besitzen müssen. Dazwischen liegt eine ganze Reihe von Viren, die wir noch nicht sicher zu klassifizieren vermögen (30), von denen sich aber auch bei den größten Formen, trotz ausreichender optischer Hilfsmittel, nicht die Kennzeichen der Bakterienzelle finden lassen.

In neuerer Zeit hat P. JORDAN die Hypothese aufgestellt, es handle sich bei den Viren um Gene, die sich in der befallenen Zelle vermehren. Unabhängig von dieser Vorstellung hat L. W. JANSSEN am Beispiel der Maul- und Klauenseuche auf Grund seiner Theorie der Eiweißstruktur genauer erörtert, wie eine Entstehung pathologischer Eiweißsynthesen durch das Eindringen des Virus in die Zelle im einzelnen gedacht werden kann.

Vielleicht kann auch das Verständnis für eine Vermehrung unbelebter Infektionsstoffe dadurch erleichtert werden, daß wir an die großen chemischen Leistungen anknüpfen, die der Organismus bei der Antikörperbildung vollbringt. Bei dieser synthetisiert er Antikörper mit chemospezifischen Affinitäten zum auslösenden Antigen gegen sehr verschiedenartige Antigene. Möglicherweise bildet er bei den Viruskrankheiten nicht nur Antikörper, sondern auch das in den Organismus eingedrungene Antigen, also in unserem Falle das Virus selbst. Wenn diese Vorstellung auch nicht ohne Schwierigkeiten mit der Theorie der Antikörperbildung in Übereinstimmung zu bringen ist, so vermag sie uns doch vielleicht den Gedanken an die Synthese pathogener Wirkstoffe durch eine Analogie verständlich zu machen.

Die Gedanken, die ich Ihnen über die aufgeworfenen Fragen aus den Grenzgebieten der Strukturforschung und Mikrobiologie vorgetragen habe, wurden zum Teil früher schon vielfach besprochen. Neu ist, daß wir diese Fragen aus dem Zustand der bloßen Erörterung jetzt herausheben können, da sie durch den methodischen Fortschritt dem Ex-



periment und damit auch einer Lösung besser zugänglich geworden sind. In dieser neuen Situation scheint mir eine Verpflichtung für die weitere Erforschung dieser Fragen zu liegen.

1. H. RUSKA, D. m. W. 1938 Nr. 64 S. 1203, vgl. auch B. v. BORRIES, E. RUSKA u. H. RUSKA, Kl. W. 1938 Bd. 17 S. 921. — 2. H. MAHL, Naturw. 1939 Bd. 27 S. 417; Z. Techn. Phys. 1939 Bd. 20 S. 316. — 3. M. v. ARDENNE, Naturw. 1940 Bd. 28 S. 113; Z. Phys. 1940 Bd. 115 S. 339; vgl. auch Elektronen-Übermikroskopie. Springer, 1940. — 4. A. JAKOB u. H. MAHL, Arch. exper. Zellforsch. 1940 Bd. 24 S. 87. — 5. G. MELCHERS, G. SCHRAMM, H. TRURNIT u. H. FRIEDRICH-FREKSA, Biol. Zbl. 1940 Bd. 60 S. 524. — 6. B. v. BORRIES u. E. RUSKA, Erg. exakt. Naturw. 1940 Bd. 19 S. 237. — 7. H. RUSKA, Naturw. 1939 Bd. 27 S. 287. — 8. A. FREY-WYSSLING, Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Bornträger, Berlin 1938. — 9. B. v. BORRIES u. E. RUSKA, Z. VDI. 1938 Bd. 82 S. 937. — 10. G. A. KAUSCHE u. H. RUSKA, Naturw. 1940 Bd. 28 S. 304. — 11. Dies., ebenda 1940 Bd. 28 S. 303. — 12. E. HUSEMANN u. H. RUSKA, ebenda 1940 Bd. 28 S. 534. — 13. Unveröffentlichte Untersuchungen mit C. DITTMAR. — 14. Vgl. W. J. SCHMIDT, Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Protoplasma und Metoplasma. Bornträger, Berlin 1937. — 15. C. WOLPERS u. H. RUSKA, Kl. W. 1939 Bd. 18 S. 1077, 1111. — 16. H. RUSKA u. C. WOLPERS, ebenda 1940 Bd. 19 S. 695. — 17. H. RUSKA, Kolloid-Z. 1940 Bd. 92 S. 276. — 18. H. RUSKA u. M. KRETSCHMER, ebenda 1940 Bd. 93 S. 163. — 19. G. A. KAUSCHE u. H. RUSKA, Biochem. Z. 1939 Bd. 303 S. 221. — 20. G. A. KAUSCHE, Naturw. 1938 Bd. 26 S. 27; Biol. Zbl. 1939 Bd. 54 S. 194. — 21. G. A. KAUSCHE u. H. RUSKA, Kolloid-Z. 1939 Bd. 89 S. 21. — 22. Dies., erscheint demnächst. — 23. Unveröffentlichte Untersuchungen von C. WOLPERS, K. ZWICKAU u. B. LINDEMANN. — 24. G. PIEKARSKI u. H. RUSKA, Arch. Mikrobiol. 1939 Bd. 10 S. 302; E. FRÜHBRODT u. H. RUSKA, ebenda 1940 Bd. 11 S. 137. — 25. A. LEMBKE u. H. RUSKA, Kl. W. 1940 Bd. 19 S. 217. — 26. H. RUSKA, Naturw. 1940 Bd. 28 S. 45. — 27. A. S. McFARLANE, M. G. McFARLANE, C. R. AMIES u. G. H. EAGLES, Brit. J. exper. Path. 1939 Bd. 20 S. 485. — 28. L. W. JANSSEN, Protoplasma 1939 Bd. 33 S. 410. — 29. M. W. BEIJERINCK, Zbl. Bakter. usw. 1899 Bd. 5 S. 27. — 30. Vgl. die hervorragende Diskussion bei R. DOERR, Handb. d. Virusforschung. Bd. I. Springer, 1938.

(Anschr. des Verf.: Berlin NW 7, I. Medizinische Klinik der Charité)