

# Grundlagen der Zellbiologie

- 1 Die Theorie von der Zelle – 2
- 2 Die Bausteine des Lebens – 4
- 3 Der Ursprung der Zellen – 6
- 4 Zelldiversität – 8
- 5 Viren – Grenze zum Lebendigen – 10
- 6 Techniken der Mikroskopie – 12
- 7 Die Fraktionierung von Zellbestandteilen – 14

## 1 Die Theorie von der Zelle

Die Vorstellung, dass Lebewesen aus einer oder mehreren Zellen bestehen, die alle mehr oder weniger nach dem gleichen Prinzip funktionieren, existiert bereits seit langer Zeit und konnte sich infolge der Entdeckung der Mikroskopie nach und nach durchsetzen.

### 1.1 Die Entstehung des Begriffs „Zelle“ – Beobachtungen von Hooke

Der Engländer R. Hooke (1635–1703) führte Untersuchungen von Pflanzengewebe mithilfe eines relativ einfachen Gerätes durch. Das Korkgewebe erschien ihm als eine Aneinanderreihung von Kästen, die er als „Zellen“ bezeichnete (▣ Abb. 1.1).

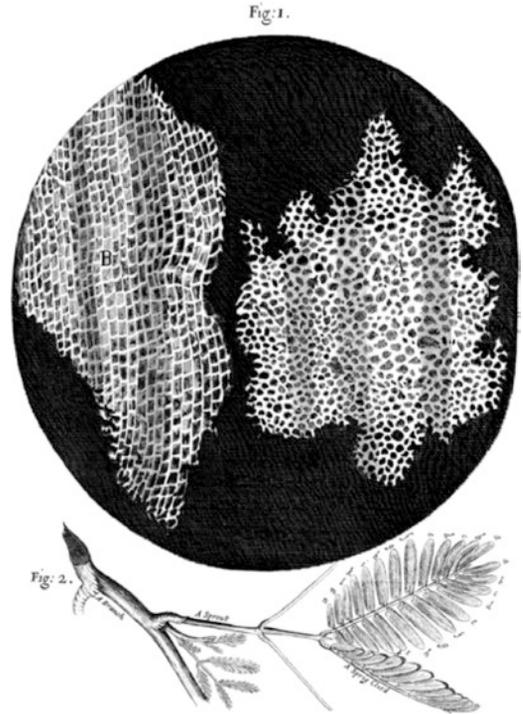
Der Holländer A. van Leeuwenhoek (1632–1723) entwickelte etwas später das erste Mikroskop. Es handelte sich um eine einfache Anordnung von schmalen Lupen, die zusammen mit dem Objekt vor dem Auge platziert wurden. Leeuwenhoek konnte auf diese Weise eine Vergrößerung auf das 200-Fache erreichen. Er führte zahlreiche Beobachtungen und Beschreibungen einzelliger Organismen wie Protozoen und Bakterien durch.

### 1.2 Schwann und die Zelltheorie

Erst viel später kam mit den Zoologen und Botanikern T. Schwann (1810–1882) und M. Schleiden (1804–1881) die Theorie von der Zelle auf. Sie bestätigten, dass alle Lebewesen, auch die hoch entwickelten, aus Zellen und deren Zellprodukten aufgebaut sind.

R. Virchow (1821–1902) ergänzte diese Theorie 1855 durch eine zweite Behauptung: *Omnis cellula e cellula* – „Jede Zelle entsteht aus einer anderen Zelle“.

Eine Zelle ist die kleinste lebende Einheit des Organismus. Sie besteht aus Cytoplasma und grenzt sich durch eine lipidreiche Membran von der Umgebung ab (▣ Abb. 1.2). Innerhalb der Zelle gibt es zahlreiche komplexe Systeme, die für sich allein genommen jedoch nicht die Voraussetzun-



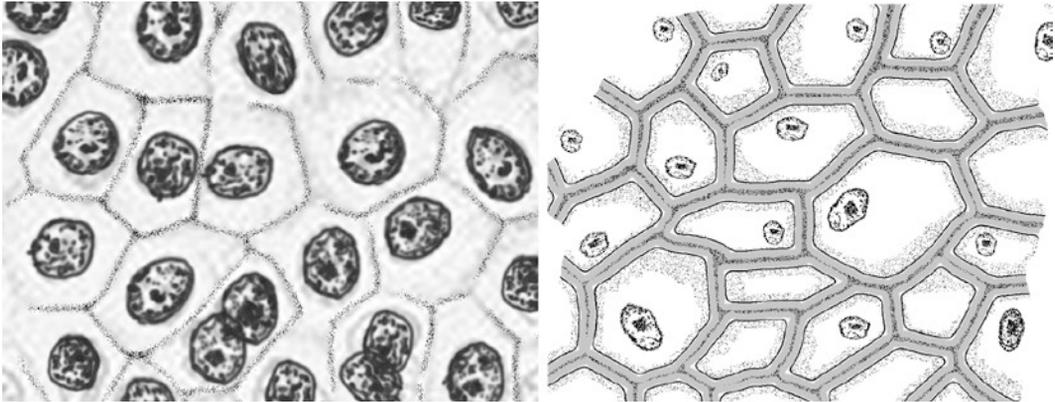
▣ **Abb. 1.1** Untersuchung von Korkgewebe durch R. Hooke. Das Korkgewebe ist offensichtlich durch Scheidewände unterbrochen, sodass es wie eine Anordnung kleiner „Kästen“, der Zellen, erscheint. (© Alain Gerfaud)

gen des Lebendigen erfüllen. Diese Systeme sind in den einzelnen Kapiteln dieses Buches näher beschrieben.

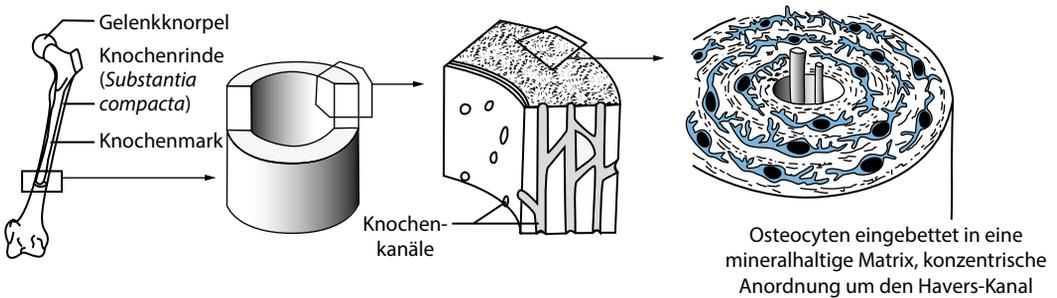
### 1.3 Die unterschiedlichen Zellverbindungen

Die Zelle bildet die Grundeinheit vielzelliger Organismen. Innerhalb dieser Organismen sind die Beziehungen der Zellen untereinander vielfältig.

So können in einem Gewebe, also einer geordneten Ansammlung von Zellen, diese untereinander über komplexe Zell-Zell-Verbindungen verbunden sein oder sie können durch extrazelluläre Bestandteile, die Matrizen bilden ▶ Tafel 164, getrennt sein. Diese Matrizen können sehr stabil und biegsam sein (pflanzliche faserreiche Zellwand), voluminös und gelegentlich auch sehr fest (Knochengewebe) (▣ Abb. 1.3, ▶ Tafeln 140 und 141). Beim Blut ist die



■ **Abb. 1.2 Tierisches und pflanzliches Gewebe.** Bei der Betrachtung komplexer Gewebe zeigt sich deutlich der zelluläre Aufbau. Dies trifft besonders auf das pflanzliche Gewebe zu, bei dem die Zellbegrenzungen von einer faserreichen Zellwand umgeben sind (rechts in der Abb.). Bei tierischem Gewebe sind die Zellbegrenzungen ebenfalls erkennbar, die genaue Identifikation der Zellmembranen ist jedoch nur mit einem Elektronenmikroskop möglich (links in der Abb.). (© Alain Gerfaud)



■ **Abb. 1.3 Aufbau des Knochengewebes.** Der Knochen ist ein lebendes Gewebe und besteht als solches aus zahlreichen aneinandergrenzenden Zellen, den Osteocyten. Die mechanischen Eigenschaften des Knochens sind an eine sehr feste und vor allem sehr ausgedehnte extrazelluläre Matrix gebunden, die jedoch die Zell-Zell-Verbindungen nicht behindert. (© Alain Gerfaud)

Umgebung der Zellen keine Matrix, sondern eine Flüssigkeit. Bei allen Formen wird jedoch der Kontakt zwischen den Zellen sichergestellt ► [Tafel 143](#).

## 2 Die Bausteine des Lebens

---

Die Chemie des Lebens ist einzigartig und Ursprung eines umfassenden Zweiges der Chemie, der organischen Chemie. Die organische Chemie macht nicht jeden Aspekt des Lebendigen aus; wie wir sehen werden, ist die logische Organisation der Zellen absolut notwendig. Dennoch gibt uns die Analyse der Chemie der Lebewesen Auskunft über einige fundamentale Prinzipien des Lebens.

### 2.1 Wasser – der wichtigste Baustein des Lebens

---

Die chemischen Abläufe des Lebens sind ohne Wasser nicht vorstellbar ► [Tafel 11](#). Das Leben auf der Erde begann im Wasser, und es ist genau dieses Wasser, das den Hauptbestandteil des Zellmilieus ausmacht (► [Abb. 2.1](#)).

Ein bedeutender Schritt der Evolution war die Eroberung der Landmasse und damit verbunden die Anpassung an die eingeschränkten Wasservorkommen dieser Umgebung. Auch zwischen den Lebewesen schwanken die Wassergehalte unterschiedlich stark (► [Tab. 2.1](#)).

### 2.2 Die wichtigsten Elemente

---

Zellen bestehen aus organischen Molekülen, d. h. aus Molekülen mit einem Gerüst aus ungefähr zwei bis 15 Kohlenstoffatomen (► [Tab. 2.2](#)). Zusätzliche Atome wie Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff führen zu veränderten Moleküleigenschaften.

Einige Elemente wie Phosphor und Schwefel sowie die Spurenelemente kommen nur in geringen Mengen vor, sie sind dennoch essenziell.

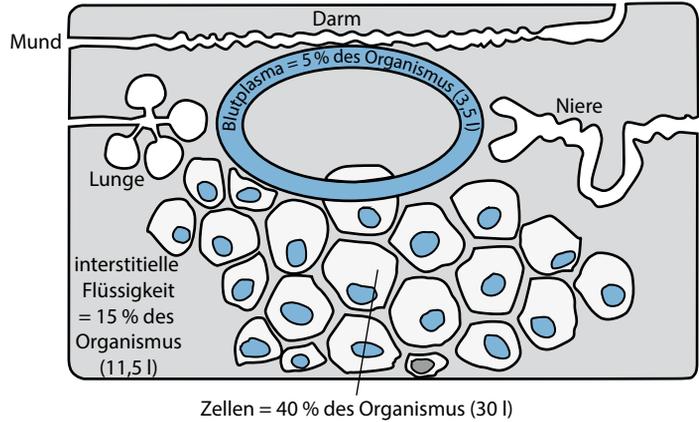
### Exobiologie

Die Suche nach extraterrestrischem Leben kann auf der Basis von chemischen Analysen durchgeführt werden. Dadurch ist es möglich, Lebensformen aufzuspüren, die mit den irdischen vergleichbar sind.

Wasser stellt hierbei den ersten Untersuchungsansatz dar, denn Leben ist ohne Wasser nicht vorstellbar. Die Suche nach Leben beruht dabei primär auf der Suche nach Wasser in flüssiger Form, das in ausreichender Menge und über einen relativ großen Zeitraum verfügbar ist.

Anschließend können spezifische Elemente oder Moleküle aufgespürt werden, die Bestandteile von Organismen darstellen. Eine bedeutsame Spur stellen hierbei Kohlenstoffisotope dar. Die gesamte belebte Welt bindet bevorzugt das Kohlenstoffisotop  $^{12}\text{C}$  (über die Photosynthese der Pflanzen). Dadurch entsteht organisches Material, das im Vergleich zu den Mineralien arm an  $^{13}\text{C}$  ist. Moleküle, die wenig  $^{13}\text{C}$  enthalten, sind somit ein Kennzeichen für biologische Aktivität. Auf diese Weise wird die Geschichte des Lebens insbesondere in geologischen Ablagerungen erforscht. Die extraterrestrische Anreicherung des Kohlenstoffisotops  $^{12}\text{C}$  könnte also ein Hinweis dafür sein, dass ein ähnlicher Prozess wie die Photosynthese stattfindet.

**Abb. 2.1 Die flüssigkeitsgefüllten Kompartimente beim Menschen.** Die angegebenen Zahlen beziehen sich auf die Wasserverteilung bei einem Menschen mit einem Körpergewicht von 75 kg. Die Zellen sind mit einer wässrigen Lösung gefüllt, die die Zellflüssigkeit ausmacht. Sie sind von interstitieller Flüssigkeit umgeben, die in einer Matrix eingeschlossen ist, und von frei fließender Flüssigkeit, wie dem Blut oder der Lymphe. (© Alain Gerfaud)



**Tab. 2.1 Wassergehalte in den verschiedenen Organismen**

Mensch	60–65%
Qualle	98%
Insekt	50–80%
Samenkorn	ca. 10%
Kopfsalat	97%
Kartoffel	79%

**Tab. 2.2 Chemische Zusammensetzung von Organismen (in %)**

<b>Hauptelemente</b>	Kohlenstoff	C	19,3
	Wasserstoff	H	9,3
	Stickstoff	N	5,1
	Sauerstoff	O	62,8
	Phosphor	P	0,6
	Schwefel	S	0,6
<b>Mineralelemente</b>	Calcium	Ca	1,4
	Natrium	Na	0,3
	Kalium	K	0,2
	Magnesium	Mg	0,04
	Chlor	Cl	0,2
<b>Spurenelemente</b>	Eisen	Fe	0,005
	Silicium	Si	0,004
	Zink	Zn	0,0025
	Kupfer	Cu	0,0004

### 3 Der Ursprung der Zellen

Stützt man sich auf den Grundsatz von Rudolf Virchow, *omnis cellula e cellula*, und betrachtet ihn im Kontext der Evolution, stößt man schnell auf die Frage nach der „ersten Zelle“. Es ist eine hoffnungslose Illusion, eine derartige erste Zelle jemals beschreiben zu wollen. Wir können uns aber die Eigenschaften der Vorläuferzelle vorstellen, aus der alle derzeit bekannten Lebewesen hervorgegangen sind.

#### 3.1 Lebewesen unterliegen einer andauernden Evolution

Evolution findet auf der Basis von Reproduktion und Variation statt, daher müssen zwei stammesgeschichtlich verwandte Gruppen immer einen gemeinsamen Vorfahren haben. Die große Ähnlichkeit zwischen den Lebewesen hinsichtlich ihrer chemischen und strukturellen Eigenschaften (insbesondere die Organisation der DNA) lässt vermuten, dass alle Lebewesen miteinander verwandt sind und alle Zellen von einer Urzelle abstammen.

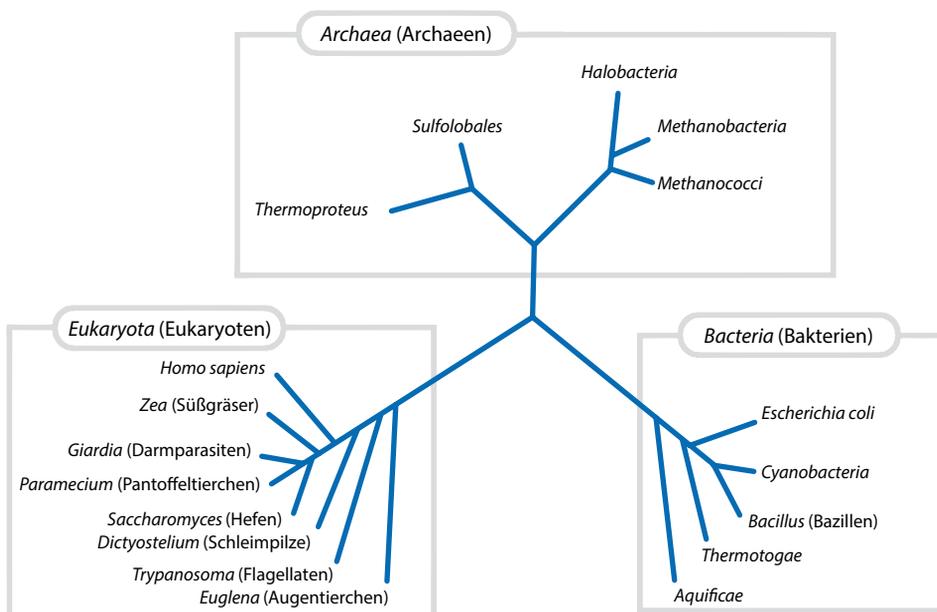
#### 3.2 Ein gemeinsamer Vorfahre – der phylogenetische Stammbaum

Die stammesgeschichtliche Verwandtschaft zwischen zwei Lebewesen kann auf vielfältige Weise bestimmt werden, insbesondere jedoch über einen DNA-Vergleich der Zellen. Diese Methode ermöglichte die Aufstellung eines phylogenetischen Stammbaumes aller Lebewesen (■ Abb. 3.1). Der Stammbaum besitzt keine Wurzeln, da keine Einigkeit darüber besteht, welche Gruppe den Ursprung bildet, aus dem die anderen beiden Gruppen entstanden. Es werden folgende Unterteilungen vorgenommen:

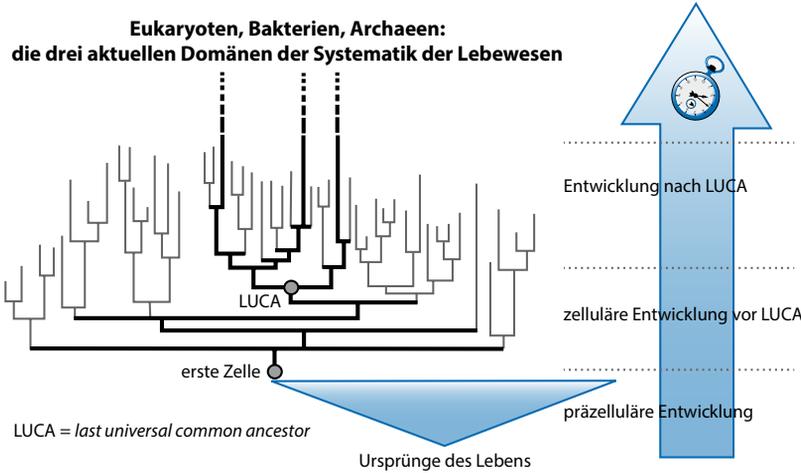
- Bakterien (Bacteria) mit einer Zellwand aus Peptidoglykanen
- Archaeen (Archaea), die spezifische Lipide in ihrer Zellmembran besitzen
- Eukaryoten (Eukaryota), deren DNA im Zellkern vorliegt

#### 3.3 LUCA war nicht das erste Lebewesen

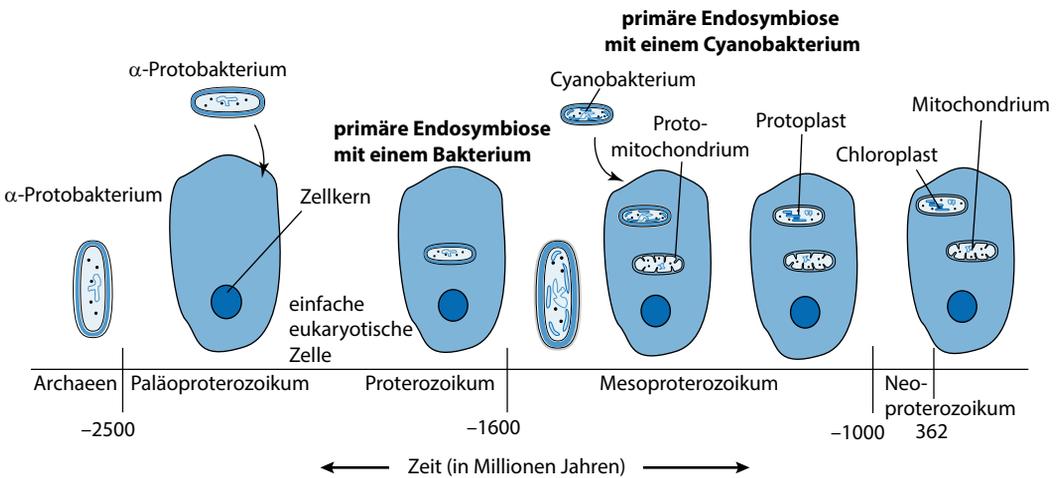
Die Verwandtschaft zwischen allen derzeitigen Lebensformen lässt einen gemeinsamen Vorfahren



■ Abb. 3.1 Der phylogenetische Stammbaum. (© Alain Gerfaud)



■ **Abb. 3.2** Stellung von LUCA in der stammesgeschichtlichen Entwicklung. (© Alain Gerfaud)



■ **Abb. 3.3** Die Entstehung von Mitochondrien und Chloroplasten durch Endosymbiose. (adaptiert nach Richard D, Chevalet P, Giraud N, Pradere F, Soubaya T (2010) Biologie Licence, Tout le cours en fiches. Dunod, Paris)

vermuten, dem man den Namen LUCA gab (*last universal common ancestor*). LUCA war jedoch nicht das erste Lebewesen. Er existierte wahrscheinlich parallel mit anderen Arten, die inzwischen ausgestorben sind (■ [Abb. 3.2](#)).

### 3.4 Endosymbiose – die Entstehung von Mitochondrien und Chloroplasten

Die genetische und phylogenetische Verwandtschaft zwischen der DNA von Chloroplasten bzw. von Mitochondrien einerseits und der DNA von Bakterien andererseits führte zur Etablierung der Endosymbiontentheorie. Danach kam es zur Symbiose zwischen Vorfahren der Eukaryoten und der Bakterien, die Photosynthese betrieben (■ [Abb. 3.3](#)). Beide profitierten jeweils von den Fähigkeiten des anderen.

## 4 Zelldiversität

Der Stoffwechsel der Zellen von Ein- und Vielzellern beruht im Grunde auf den gleichen Prinzipien. Die Spezialisierung von Zellen führt zu einer großen Vielfalt an Zellarten, die durch ihre Form und ihre spezifischen Stoffwechselmechanismen charakterisiert sind (▣ Abb. 4.1). Außerdem sind die Lebens- und Umweltbedingungen dieser Zellen extrem unterschiedlich.

### 4.1 Die verschiedenen Stoffwechsel

Lebewesen verfügen über unterschiedliche Mechanismen, um die nötige Energie für ihren Zellstoffwechsel zu generieren. Die Energiegewinnung über einen membrangebundenen Elektronentransfer ist dabei die häufigste Form.

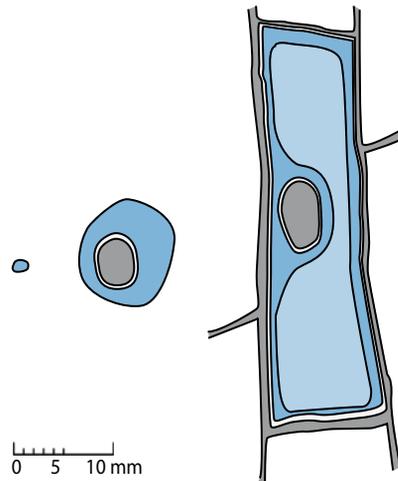
#### 4.1.1 Unterschiedliche Stoffwechsel bei Archaeen und Bakterien

Bakterien und Archaeen besitzen sehr unterschiedliche Formen der Energiegewinnung. Während einige ihre Energie mithilfe von Licht und Schwefelwasserstoff gewinnen, beziehen andere ihre Energie aus Licht und Wasser. Wieder andere sind aufgrund der Anwesenheit von Sauerstoff in der Lage, Mineralstoffe wie reduziert Eisen oder Substrate wie Ammoniak zu oxidieren. Bakterien kommen auch in Gegenden mit extremen Umweltbedingungen vor. Man findet sie beispielsweise unter dem Eis, in der Nähe von heißen Quellen sowie in Anwesenheit wie auch Abwesenheit von Licht oder Sauerstoff. Diese Welt der Nicht-Eukaryoten scheint eine unendliche metabolische Anpassungsfähigkeit zu besitzen. Es sind außerdem häufig die kleinen Zellen, die über eine sehr schnelle und hohe Stoffwechselaktivität verfügen.

#### 4.1.2 Der homogene eukaryotische Stoffwechsel

Der Stoffwechsel der Eukaryoten funktioniert hingegen nach einem einheitlichen Prinzip:

- ▣ heterotrophe Zellen oxidieren organisches Material (Mitochondrienatmung oder Gärung);
- ▣ kohlenstoffautotrophe Zellen betreiben Photosynthese (durch Chloroplasten) und Respiration.



▣ **Abb. 4.1 Größenvergleich unterschiedlicher Zelltypen.** Bakterium, tierische und pflanzliche Zelle: Die Größe nimmt von einer Zellform zur nächsten ungefähr um das Zehnfache zu. (© Alain Gerfaud)

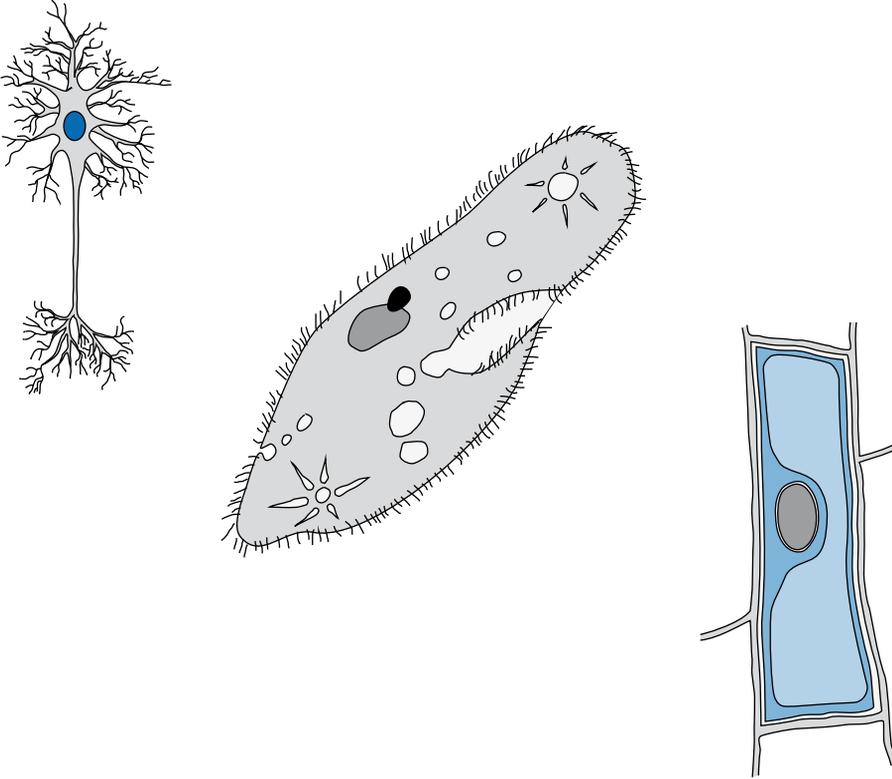
Die chemischen Voraussetzungen dieser Prozesse sind dabei während der Evolution erstaunlich gut erhalten geblieben.

### 4.2 Einzeller – die multifunktionalen Zellen

Mehrzellige Organismen traten erstmals bei den Eukaryoten auf, auch wenn viele von ihnen Einzeller sind. Bis auf wenige Ausnahmen sind Archaeen und Bakterien Einzeller. Diese Tatsache lässt die Existenz „totipotenter“ Zellen vermuten, welche alle biologischen Funktionen besitzen.

### 4.3 Die unterschiedlichen Zelltypen: Zelldifferenzierung

Der plurizelluläre Zustand bringt eine Arbeitsteilung der Zellen innerhalb des Organismus mit sich. Dies ist mit der Entwicklung hoch differenzierter und spezialisierter Zellen verbunden (▣ Abb. 4.2). Die Spezialisierungen können, wie z. B. bei einer Muskelzelle, mit einem quasi-kristallinen Cytoskelett sehr anspruchsvoll sein oder, wie beim Erythrocyten, zu einer einfachen Membran und dem Verlust des genetischen Materials führen ▶ **Tafeln 120 und 80.**



▣ **Abb. 4.2 Verschiedene Zelltypen.** Links eine Nervenzelle mit einem ca. 10  $\mu\text{m}$  langen Zellkörper, das Axon kann jedoch eine Länge von ungefähr 10 cm aufweisen. In der Mitte ein Pantoffeltierchen, ein bewimperter Einzeller. Rechts eine pflanzliche Parenchymzelle mit einer mehrere Mikrometer dicken Zellwand, die unter dem optischen Mikroskop sichtbar ist. (© Alain Gerfaud)

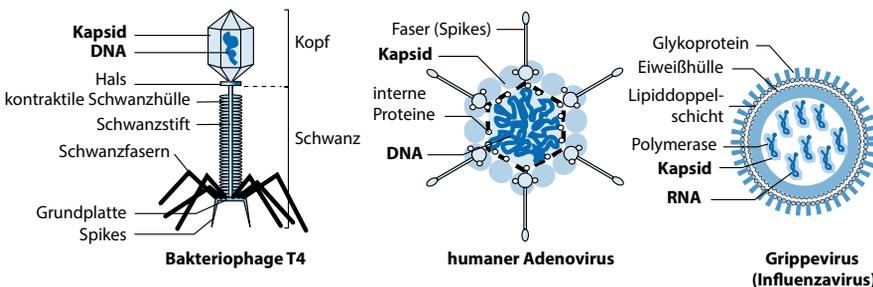
## 5 Viren – Grenze zum Lebendigen

Viren zeigten sich dem Menschen zunächst nur durch ihre Wirkung, bevor er ihre Natur und ihre Struktur entschlüsseln konnte. Viren sind parasitäre Organismen, die den Metabolismus der Zielzelle manipulieren, um ihn für ihre eigene Reproduktion zu nutzen. Obwohl sie aus biologischem Material bestehen, lassen sich Viren nicht so einfach in die belebte Welt einordnen: Sie vermehren sich nicht selbstständig, sie verbrauchen keine Energie und sie unternehmen keine Erneuerung ihrer Strukturen.

### 5.1 Viren verändern die Genexpression der Wirtszelle

Bakteriophagen sind ein sehr gutes Beispiel, um die Natur von Viren zu beschreiben (▣ Abb.5.1). Bakteriophagen sind infektiös und zerstören Bakterienkolonien durch Lyse. Bakteriophagen vermehren sich auf Kosten der Bakterien. Über chemische Analysen (DNA, Protein) konnte gezeigt werden, dass sie die Genexpression der Bakterienzelle so verändern, dass sie von deren Vermehrung profitieren. Dazu injizieren sie der Wirtszelle eine genetische Information, die die Reproduktion der Wirtszelle und die Synthese neuer Viren kontrolliert. Damit konnte der lytische Zyklus des Bakteriophagen erstellt werden (▣ Abb.5.2).

► Ein Virus ist in gewisser Weise eine mobile genetische Information, die mit Proteinen ausgestattet ist, welche ihm die Infektion der Wirtszelle erleichtern.



▣ Abb. 5.1 Strukturen verschiedener Virenarten. (adaptiert nach Richard D, Chevalat P, Giraud N, Pradere F, Soubaya T (2010) Biologie Licence, Tout le cours en fiches. Dunod, Paris)

## 5.2 Eine Lebensform von maximaler Einfachheit

Über die chemische Analyse hinaus konnte mit dem Transmissionselektronenmikroskop die Struktur von Viren bestimmt werden.

### 5.2.1 Kapsidproteine und das genetische Material

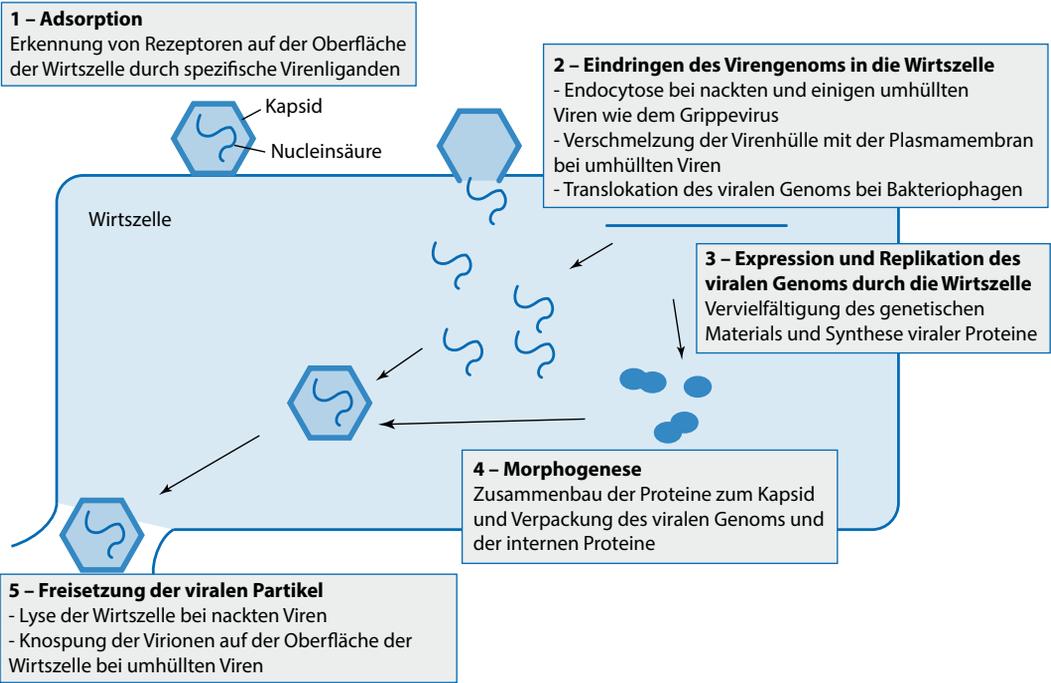
Viren besitzen als genetisches Material ein- oder doppelsträngige RNA oder DNA. Die Erbinformation wird von einer Hülle aus Kapsidproteinen geschützt, die manchmal von einer Lipiddoppelschicht mit aufgelagerten Glykoproteinen umgeben sind. Kapside bestehen aus wenigen, gleichmäßig geformten und quasikristallinen Proteinen. Kapsid und Lipidhülle ermöglichen die Einbringung des viralen Genmaterials in das Cytoplasma der Wirtszelle. Es handelt sich dabei beispielsweise um Proteine, die Rezeptoren auf der Oberfläche der Zielzelle erkennen oder die die Zielmembran perforieren können.

### 5.2.2 Selbstzusammenbau der Kapside

Neue Kapside werden spontan aus ihren Bausteinen gebildet (*assembly*). Nachdem die viralen Proteine durch den Wirtorganismus synthetisiert wurden, kann der selbstständige Zusammenbau dieser Proteine zum Kapsid erfolgen.

## 5.3 Virenklassifikation

Viren werden anhand ihrer Struktur, ihrer Natur, ihres Genmaterials und ihrer Vermehrungsform in der Wirtszelle klassifiziert (▣ Tab.5.1).



■ **Abb. 5.2** Lytischer Zyklus eines Virus. (adaptiert nach Richard D, Chevalet P, Giraud N, Pradere F, Soubaya T (2010) Biologie Licence, Tout le cours en fiches. Dunod, Paris)

■ **Tab. 5.1** Klassifikation der Viren

	DNA-Viren			RNA-Viren					
	Doppelstrang		Einzelstrang	Doppelstrang	Einzelstrang				
					positive Polarität		negative Polarität		
Einteilung nach Baltimore	Gruppe I		Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV		Gruppe VI	Gruppe V	
umhüllt oder nackt	umhüllt	nackt	nackt	nackt	umhüllt		nackt	umhüllt	
Kapsidsymmetrie	ikosaedrisch	komplex	ikosaedrisch	ikosaedrisch	ikosaedrisch	helik	ikosaedrisch	helikal	
Beispiel	Herpes-simplex-Virus, Varizella-Zoster-Virus, Epstein-Barr-Virus	Pockenvirus	Adenovirus	Parvovirus	Rotavirus	Rubellavirus (Röteln), Gelbfiebervirus	Coronavirus	Enterovirus, HIV	Grippevirus, Rabiesvirus (Tollwut)

## 6 Techniken der Mikroskopie

Die Erkenntnisse der Zellbiologie beruhen zum großen Teil auf dem technischen Fortschritt im Bereich der Mikroskopie. Das Wort „Zelle“ geht auf die ersten Beobachtungen von Robert Hooke zurück. Im 20. Jahrhundert konnten mit der Erfindung des Elektronenmikroskops subzelluläre Bestandteile beschrieben werden.

### 6.1 Das optische Mikroskop: Gewebeuntersuchungen

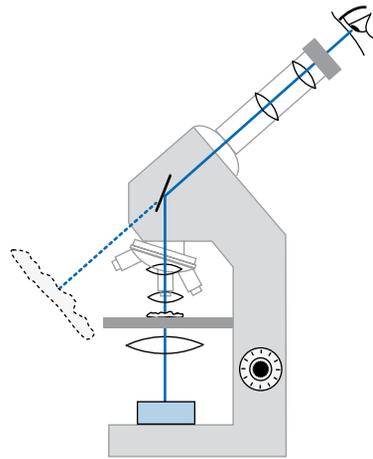
#### 6.1.1 Funktionsprinzip

Die optische Mikroskopie besteht aus zwei wesentlichen Elementen: der Erstellung eines Zwischenbildes des beobachteten Objekts durch ein Objektiv und der Betrachtung dieses Zwischenbildes durch ein Okular. Dieses führt eine Vergrößerung und eine Projektion des Bildes in die gewünschte Position aus und ermöglicht damit das genaue Betrachten (▣ Abb. 6.1). Zusammen führen diese Elemente zu einer Vergrößerung und zu einer höheren Auflösung des Bildes. Die Auflösung ist auf wenige zehn Mikrometer begrenzt und hängt von der Wellenlänge des sichtbaren Lichts ab.

Das Präparat sollte sauber und dünn sein, damit ausreichend Licht für die Betrachtung hindurchdringen kann. Auf diese Weise können mehrere Zellschichten und insbesondere lebendes Gewebe untersucht werden.

#### 6.1.2 Ergänzende Techniken

Techniken wie Färbung, Autoradiographie und Fluoreszenz erleichtern die Untersuchung der Zellen ► Tafel 82. Weiterentwicklungen wie das Phasenkontrastmikroskop und das Konvokalmikroskop können in bestimmten Fällen den Kontrast oder die Feldtiefe verbessern.



▣ Abb. 6.1 Funktionsweise eines optischen Mikroskops. (© Alain Gerfaud)

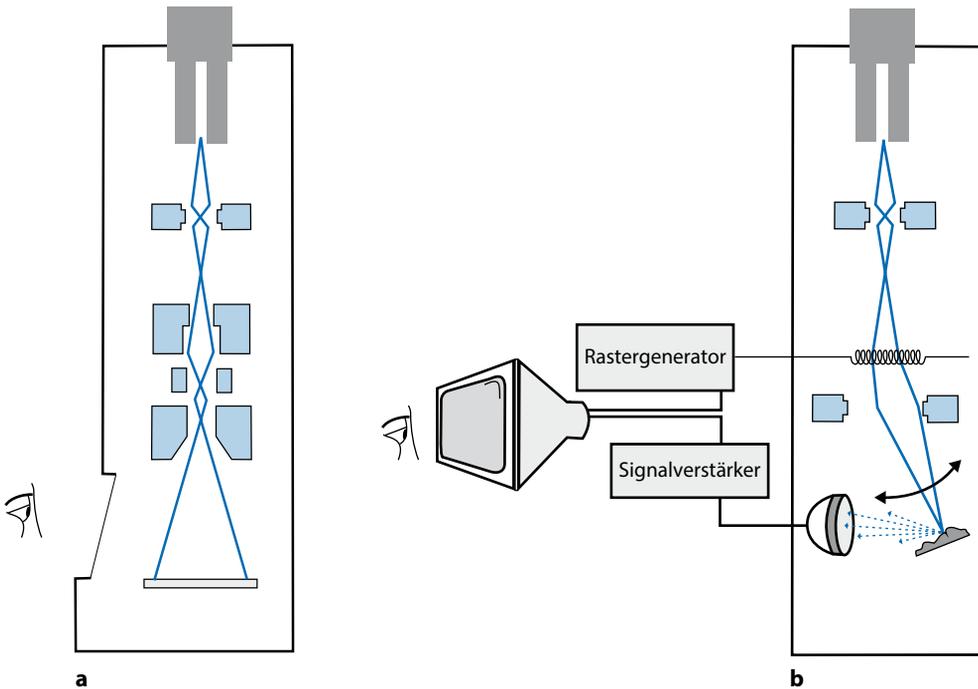
### 6.2 Das Transmissionselektronenmikroskop: Erfassung von Ultrastrukturen

#### 6.2.1 Das Prinzip ähnelt dem des optischen Mikroskops

Nimmt man an, dass ein Elektronenstrahl ähnlich aufgebaut ist wie ein Lichtstrahl, unterscheidet sich das Transmissionselektronenmikroskop (TEM) kaum vom optischen Mikroskop (▣ Abb. 6.2). Die „Linsen“ des TEM bestehen aus einem magnetischen Feld, in dem die Elektronen nach dem Prinzip der Linse gebeugt werden. Es gibt jedoch zwei große Unterschiede: Im Inneren des TEM wird ein Hochvakuum erzeugt, und die Präparate müssen ultradünn sein. Diese Bedingungen verhindern die Untersuchung von lebendem Gewebe. Dafür ist die Auflösung beträchtlich höher, und Details bis zu einigen Nanometern können sichtbar gemacht werden.

#### 6.2.2 Kontrastierung

Komplexe Oberflächenstrukturen und insbesondere sehr kleine Verbindungen (beispielsweise ein DNA-Molekül) können durch Kontrastierung der Probe hervorgehoben werden. Dafür wird eine dünne Metallschicht aufgetragen, die an kleinen Objekten hängen bleibt. Das Licht wird an diesen Stellen stärker gestreut, es entsteht ein Schatten. Dieser erzeugt die Illusion eines Reliefs (nicht zu verwechseln mit



■ **Abb. 6.2** Funktionsweise des Transmissionselektronenmikroskops (a) und des Rasterelektronenmikroskops (b). (© Alain Gerfaud)

den Bildern, die mit einem Rasterelektronenmikroskop aufgenommen werden).

### 6.3 Das Rasterelektronenmikroskop: Untersuchung von Oberflächenstrukturen

Die Analogie zwischen den elektrischen und den optischen Techniken lässt sich mit dem Rasterelektronenmikroskop erweitern. Dieses Gerät ist die elektronische Version einer Lupe oder eines Fernglases: Die Oberfläche des Präparats wird mit einem Bündel Elektronen bestrahlt (Abtastung), und die reflektierten Strahlen werden analysiert (■ [Abb. 6.2](#)). Es entsteht ein Bild, dessen feine Oberflächenstrukturen ein charakteristisches Relief bilden. Eine Verbesserung des Ergebnisses durch Kontrastierungen oder schwache Energieeinträge, die beide die Auflösung verringern, ist nicht notwendig.

## 7 Die Fraktionierung von Zellbestandteilen

Zur Gewinnung der Zellorganellen müssen die Zellen zunächst aufgereinigt werden. Die Zellbestandteile werden anschließend anhand ihrer Größe, ihrer Dichte oder anhand von spezifischen, exprimierten Oberflächenmarkern separiert.

### 7.1 Homogenisierung der Zellen

Die einzelnen oder aus dem Gewebe gelösten Zellen werden als Suspension in eine Lösung mit passendem pH-Wert und osmotischem Druck gegeben, sodass die Zellmembranen aufplatzen. Bei Bakterien, Hefen und pflanzlichen Zellen mit einer Zellwand werden zusätzlich Enzyme hinzugefügt. Zur Homogenisierung der Lösung können folgende Geräte verwendet werden:

- Zerkleinerer (z. B. Ultra-Turrax®): Die Probe wird durchmischt und das Gewebe zerkleinert.
- Handhomogenisator (z. B. Dounce-Homogenisator®): Die Zellen werden durch Quetschung zwischen dem Pistill und dem Glaszylinder zerstört. Abhängig vom Durchmesser des Zylinders werden auch die Gewebe voneinander getrennt.
- Ultraschall: Die Zellen werden abwechselnd zusammengedrückt und gedehnt, sodass sich ihre Struktur auflöst.

- Druckhomogenisator (z. B. french pressure cell press, Stickstoff-Dekompensation): Durch abwechselndes Einfrieren und Auftauen der Zellsuspension in flüssigem Stickstoff oder durch Druckerhöhung kommt es zur Ablösung der Zellmembran.

### 7.2 Auftrennung der Zellbestandteile durch Zentrifugation

Hochgeschwindigkeitszentrifugen oder Ultraschallzentrifugen, die Beschleunigungen auf das 20.000-Fache der Erdanziehungskraft (20.000 g) durchführen, ermöglichen die Fraktionierung von Zellbestandteilen. Die Absenkgeschwindigkeit der Partikel hängt von ihrer Größe, ihrer Gestalt (globulär oder gestreckt) und ihrer Dichte ab. Sie wird durch die Sedimentationskonstante (in der Einheit Svedberg, S) angegeben.

#### 7.2.1 Differenzielle Zentrifugation

Die Partikel des Zellhomogenats sinken im Zentrifugenröhrchen bei einer gegebenen Geschwindigkeit in Abhängigkeit von ihrer Größe und ihrer Dichte ab. Die Aufreinigung der zellulären Bestandteile findet in mehreren Schritten statt (Abb. 7.1). Dabei wird der jeweilige Überstand zunehmender Geschwindigkeit und Zentrifugationsdauer ausgesetzt.

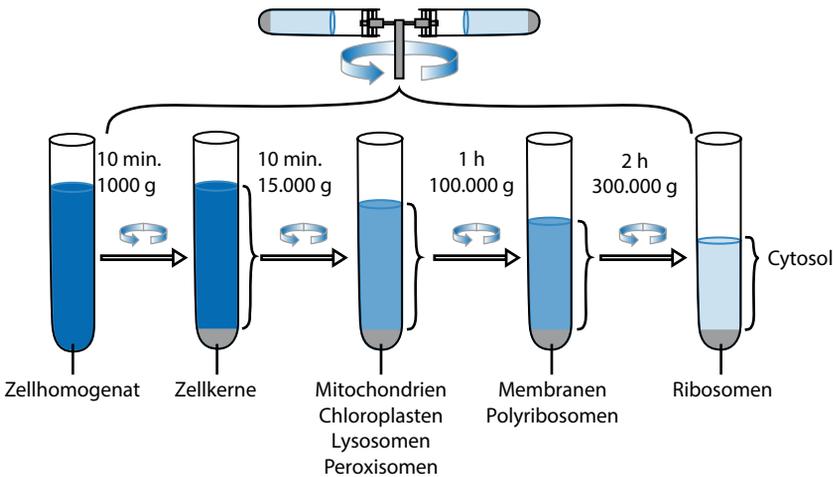
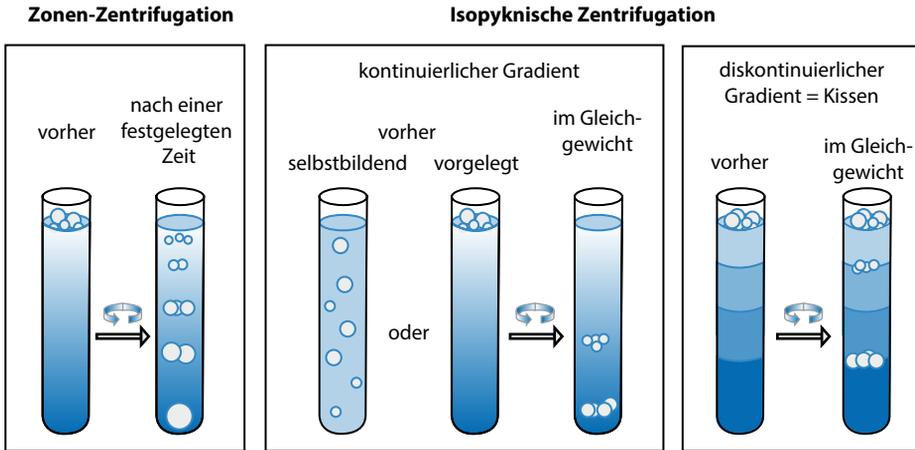


Abb. 7.1 Differenzielle Zentrifugation eines Zellhomogenats. (© Alain Gerfaud)



■ Abb. 7.2 Die verschiedenen Arten der Dichtegradientenzentrifugation. (© Alain Gerfaud)

## 7.2.2 Dichtegradientenzentrifugation

Das Zellhomogenat wird auf einen Dichtegradienten aufgetragen und anschließend mit einer Geschwindigkeit, die an die Auftrennung der gewünschten Partikel angepasst ist, zentrifugiert. Der Dichtegradient kann aus Verbindungen wie Zuckern (Saccharose), Salzen (Cäsiumchlorid CsCl) oder Kolloiden (Kieselgel Percoll) bestehen. Es gibt zwei unterschiedliche Methoden (■ Abb. 7.2):

- Bei der Zonen-Zentrifugation ist die maximale Dichte des Gradienten kleiner als die Dichte der Partikel. Die Separation der Partikel beruht auf ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit. Die Dauer der Sedimentation ist zeitlich begrenzt, damit die Partikel nicht bis zum Boden des Röhrchens absinken.
- Bei der isopyknischen Zentrifugation ist die maximale Dichte des Gradienten größer als die Dichte der Partikel. Die Separation der Partikel beruht auf ihrer Dichte. Es kann viel Zeit vergehen, bis sich ein Gleichgewicht einstellt. Der Gradient kann kontinuierlich oder diskontinuierlich aufgebaut sein. Zur Auftrennung von Nucleinsäuren (Genom- oder Plasma-DNA, RNA) wird der Cäsiumchloridgradient nicht vorgelegt, sondern mit der Probe mit konzentrierter Cäsiumchloridlösung vermischt und in das Röhrchen überführt. Der CsCl-Gradient bildet sich im Zuge der Zentrifugation aus und die Nucleinsäuren trennen sich auf.

## 7.3 Trennung durch Immunoabsorption

Die Aufreinigung von zellulären Ultrastrukturen durch Zentrifugation ermöglicht die Charakterisierung zahlreicher Zellvesikel. Es gibt außerdem Zellbestandteile, die spezifische Oberflächenmarker (Transmembranproteine) besitzen. Mit monoklonalen Antikörpern, die an eine festen Phase gebunden sind, können diese Zellstrukturen abgetrennt werden ► Tafel 194. Die feste Phase besteht meist aus Kunstharz- oder Magnetkügelchen.

### Fokus: Dimensionen einer Zelle

Die Größenverhältnisse lebender Zellen sind im Grunde leicht zu merken: Der Durchmesser von Bakterien liegt im Bereich von wenigen Mikrometern, tierische Zellen sind ungefähr  $10\ \mu\text{m}$  groß, und pflanzliche Zellen haben eine Länge von  $100\ \mu\text{m}$ .

Die verhältnismäßig geringe Zellgröße sollte nicht darüber hinwegtäuschen, dass Zellen groß genug sind, um zahlreiche und hoch komplexe Systeme unterzubringen (■ Abb. 7.3). Dort werden die Hauptaufgaben der Zelle durchgeführt, welche insbesondere aus chemischer Arbeit bestehen, die an Molekülen von wenigen Nanometern Größe stattfindet. Als Werkzeuge dienen Proteine mit einem Durchmesser von ein bis zehn Nanometern.

Hierzu ein einfacher Vergleich: Zielobjekte der Zelle sind kleine bewegliche Moleküle (Größe: einige Nanometer). Diese werden von Werkzeugen wie Proteinen (Größe:  $10\ \text{nm}$ ) in Substrukturen der Zelle (Größe:  $100\ \text{nm}$  bis  $1\ \mu\text{m}$ ) bearbeitet. Das Ganze findet in einer Zelle von  $10\ \mu\text{m}$  Größe statt. Diese zelluläre Organisation ist sozialen Lebensformen sehr ähnlich: Der Mensch (Größe:  $1\ \text{m}$ ) behandelt Objekte wie Bücher, Werkzeug oder Telefone (Größe:  $10\ \text{cm}$ ) in Systemen wie Häusern, Büros und Zügen (Größe:  $10\text{--}100\ \text{m}$ ). Dies findet in Städten

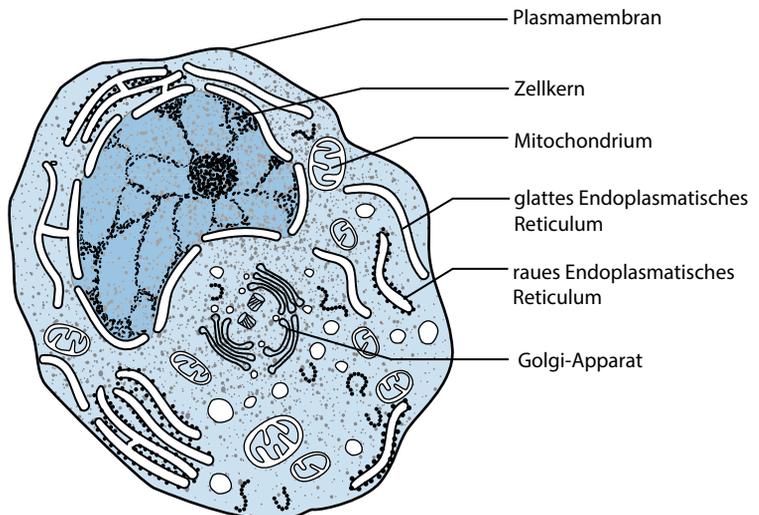
von einigen Kilometern Ausdehnung statt. So gesehen ist der Grad der Komplexität einer Zelle mit demjenigen einer Stadt vergleichbar.

Wir sollten uns über die Methoden der Zellbeobachtung hinaus, die stark auf der Mikroskopie basieren, darum bemühen, die Zelle als ein System von enormer Größe anzusehen.

Biologische Membranen bilden für die meisten organischen Moleküle Diffusionsbarrieren. Dadurch können Moleküle voneinander getrennt bzw. angereichert und Konzentrationsgradienten aufgebaut werden. In den abgetrennten Milieus finden unterschiedliche Zellaktivitäten statt. Die Zellmembranen sind ca.  $7,5\ \text{nm}$  dick und bestehen aus Lipiden. Sie umschließen die Kompartimente, die eine Länge von einigen Mikrometern besitzen.

Die Membran, welche die Zelle umschließt, ist die Plasmamembran. Im Inneren der Zelle befinden sich der Zellkern und weitere Zellorganellen, die ebenfalls von Membransystemen umgeben sind. Der Zellkern und die Mitochondrien verfügen jeweils über Doppelmembranen. Pflanzenzellen besitzen weitere energieproduzierenden Zellorganellen: die Chloroplasten (mit Doppelmembran). Daneben gibt es noch Hohlraumsysteme in der Zelle, die von einer einfachen Membran umschlossen sind: das Endoplasmatische Reticulum und der Golgi-Apparat.

■ Abb. 7.3 Ultrastrukturen einer tierischen Zelle. (© Alain Gerfaud)



## Multiple Choice-Fragen

**?** Multiple Choice-Fragen

Kreuzen Sie die richtige(n) Antwort(en) an. Die Lösungen finden Sie auf der Rückseite.

**1.1** Zellen

- a) können ohne andere Zellen nicht überleben.
- b) sind eukaryotische Organismen.
- c) sind von einer Lipidmembran umgeben.

**1.2** Hydrophile Moleküle

- a) lagern sich in einer wässrigen Lösung zusammen.
- b) können biologische Membranen nur schwer passieren.
- c) sind klein.

**1.3** Kohlenstoff

- a) ist der Grundbaustein organischer Moleküle.
- b) kommt kaum in Lebewesen vor.
- c) wird von Lebewesen bevorzugt als  $^{12}\text{C}$ -Isotop eingebaut.

**1.4** LUCA

- a) war die erste Zelle auf der Erde.
- b) ist ein Bakterium.
- c) ist der gemeinsame Vorfahr aller derzeit existierenden Lebewesen.

**1.5** Eine differenzierte Zelle

- a) ist bei Vielzellern auf eine bestimmte Aufgabe spezialisiert.
- b) ist totipotent.
- c) besitzt keinen Zellkern.

**1.6** Bakterien

- a) sind echte Zellen.
- b) betreiben Gärung statt Atmung, da sie ohne Sauerstoff leben.
- c) sind alle zur Photosynthese fähig.

**1.7** Chloroplasten

- a) sind Bakterien.
- b) entsprechen ungefähr der Größe des Zellkerns.
- c) sind Mitochondrien, die sich im Laufe der Evolution weiterentwickelt haben.

**1.8** Mit dem Transmissionselektronenmikroskop

- a) können keine lebenden Gewebe untersucht werden.
- b) können nur Schwarz-Weiß-Bilder erzeugt werden.

- c) kann im Gegensatz zum Rasterelektronenmikroskop nur eine geringe Auflösung erreicht werden.

**1.9** Ein Bakteriophage

- a) gewinnt Energie durch Gärung.
- b) ist ein intrazellulärer Parasit.
- c) besteht aus Bakterien-DNA.

**1.10** Eine eukaryotische Zelle

- a) besitzt einen Zellkern mit einer Kernhülle.
- b) besitzt keine Kompartimente.
- c) ist unter dem optischen Mikroskop nicht erkennbar.

## ✓ Antworten

- 1.1 c)** Alle Zellen grenzen sich gegenüber der Umwelt durch eine Membran ab, die zum größten Teil aus Lipiden besteht. Organische hydrophile Moleküle werden auf diese Weise abtrennt. Die Bezeichnung Zelle bezieht sich nicht nur auf Eukaryoten. Eine Vielzahl von Organismen besteht nur aus einer einzigen Zelle.
- 1.2 b)** Die hydrophoben oder hydrophilen Eigenschaften eines Moleküls werden nicht durch seine Größe, sondern vielmehr durch seine chemischen Gruppen bestimmt. Hydrophobe Moleküle lagern sich in wässrigen Lösungen zusammen. Membranen bilden wirksame Hindernisse für hydrophile Moleküle.
- 1.3 a) und c)** Organische Moleküle bestehen zum großen Teil aus Kohlenstoff oder einem Kohlenstoffgerüst. Bei der Photosynthese wird Kohlenstoff aus der Atmosphäre fixiert, dabei wird das  $^{12}\text{C}$ -Isotop bevorzugt.
- 1.4 c)** LUCA ist ein Akronym und bezeichnet den letzten gemeinsamen Vorfahren aller aktuellen Lebewesen auf der Erde. Es ist nicht klar, ob LUCA ein Eukaryot, ein Bakterium oder ein Archaea war. LUCA war mit Sicherheit eine Zelle, aber nicht die Erste. Es gab mit Sicherheit andere Organismen vor LUCA.
- 1.5 a)** Die Arbeitsteilung bei den Vielzellern machte eine Differenzierung der Zellen notwendig. Diese Zellen sind sehr unterschiedlich und übernehmen spezifische Aufgaben innerhalb des Organismus. Die differenzierten Zellen haben im Gegensatz zu den Einzellern ihre totipotenten Eigenschaften verloren. Mit Ausnahme der Erythrocyten verfügen sowohl die meisten differenzierten als auch die undifferenzierten Zellen über einen Zellkern.
- 1.6 a)** Bakterien sind hauptsächlich Einzeller. Sie besitzen eine einfache Struktur, ohne einen Zellkern und ohne Kompartimente. Sie sind dennoch Zellen. Ihr Stoffwechsel ist sehr variabel. Einige Bakterien betreiben Atmung, mit oder ohne Sauerstoff, und manche betreiben Gärung etc. Nur einige unter ihnen betreiben die Photosynthese.
- 1.7 b)** Chloroplasten sind große Zellorganellen von ungefähr 10  $\mu\text{m}$  Länge. Wie die Mitochondrien sind sie aus der Symbiose eines Bakteriums mit einem Vorfahren der Eukaryoten hervorgegangen und haben sich nicht aus Mitochondrien entwickelt. Chloroplasten stammen von Bakterien ab, sind aber selbst keine Bakterien.
- 1.8 a und b)** Elektronenmikroskope besitzen in ihrem Inneren ein Hochvakuum, das die Untersuchung wasserhaltiger Frischpräparate verhindert. Das entstehende Bild im Mikroskop ist binär (ein Elektron wird detektiert oder nicht detektiert), es ist daher prinzipiell schwarz-weiß. Darüber hinaus besitzt das Transmissionselektronenmikroskop eine höhere Auflösung als das Rasterelektronenmikroskop.
- 1.9 b)** Viren sind Organismen an der Schwelle zum Leben. Sie haben keinen eigenen Metabolismus, gewinnen keine Energie und betreiben weder Atmung noch Gärung. Bakteriophagen sind intrazelluläre Parasiten, die in Bakterien ihr genetisches Material, DNA oder RNA, injizieren. Das Erbgut ist jedoch nicht bakteriell. Außerdem besitzen Bakteriophagen Kapsidproteine und bestehen daher nicht nur aus Nucleinsäuren.
- 1.10 a)** Die Anwesenheit eines membranumhüllten Zellkerns ist ein Kennzeichen der Eukaryoten. Außerdem besitzen sie ausgedehnte Zellkompartimente. Eukaryoten sind einige Mikrometer groß und lassen sich klar unter dem optischen Mikroskop erkennen.