

II. Stoffaufnahme und transzellulärer Transport

Physiologie der Pinocytose bei Amöben

Von

HEINZ HOLTER, Kopenhagen

Mit 13 Abbildungen

A. Einleitung

Die ursprüngliche Definition der Pinocytose als das „Trinken“ der Zellen, also die tropfenweise Aufnahme von Flüssigkeit in diskreten, vakuolisierten Quanten oder Schlucken, hat durch die Arbeiten der letzten Jahre einen gewissen Bedeutungswandel erfahren. Es soll daher schon einleitungsweise hervorgehoben werden, daß nach dem gegenwärtigen Stand unseres Wissens das Wesentliche der Pinocytose nicht die Aufnahme von *Flüssigkeit* ist, sondern die Aufnahme der in der Flüssigkeit enthaltenen, gelösten oder suspendierten *Substanzen*, deren Anreicherung durch Adsorption eine wichtige Komponente im Pinocytosemechanismus darstellt.

Diese Bedeutungsverschiebung ist natürlich von großer Wichtigkeit für die physiologischen Aspekte des Pinocytoseprozesses, berührt aber die morphologische Definition der Pinocytose viel weniger. In morphologischer Beziehung können wir daran festhalten, daß das entscheidende Kennzeichen der Pinocytose die *Invagination* und Abschnürung der Zellmembran ist, wodurch unter Umschließung kleiner Volumina des Außenmediums gewisse Teile der Zelloberfläche als Vakuolenwand ins Zellinnere befördert werden.

Diese Betrachtungsweise führt es mit sich, daß eine scharfe begriffsmäßige Sonderung der Pinocytose von anderen, verwandten Formen der zellulären Substanzaufnahme immer schwieriger wird. Sowohl METCHNIKOFFS [30] klassische Phagocytose wie eine lange Reihe verwandter Prozesse dienen dem gleichen Zweck, der Substanzaufnahme, mit den gleichen Mitteln, der Vakuolenbildung nach Invagination. Eine Unterteilung in Athrocytose [21], Kolloidopexie [9], Ultraphagocytose [22], Mikropinocytose [36], Rhopheocytose [40], u. a., je nach der Größe der aufgenommenen Teilchen oder der Größe der aufnehmenden Vesikel ist zweifellos praktisch, morphologisch und historisch gerechtfertigt. Doch erscheint es wichtig, daran festzuhalten, daß das zellphysiologisch entscheidende Charakteristikum allen diesen Prozessen gemeinsam ist: es ist die Verlegung der Membranbarriere von der Oberfläche in das Zellinnere.

NOVIKOFF [35] hat 1961 vorgeschlagen, diese Sachlage durch einen gemeinsamen Namen anzuerkennen, und DE DUVE hat auf einem 1963 in London abgehaltenen Symposium [19] das Wort „Endocytose“ als Sammelbegriff in Vorschlag gebracht, zugleich mit „Exocytose“ als Sammelname für den umgekehrt gerichteten exkretorischen Prozeß. Trotz einiger etymologischer Bedenken [38] hat der Vorschlag seiner praktischen Anwendbarkeit wegen Anschluß gefunden.

Das Thema meines Referates ist somit die Besprechung eines Spezialfalles der Endocytose, nämlich der Pinocytose, unter besonderer Berücksichtigung der zellphysiologischen Aspekte dieses Prozesses. Da aus rein praktischen Gründen die experimentelle physiologische Bearbeitung der Pinocytose hauptsächlich an Amöben geschehen ist, wird vor allem von diesen Organismen die Rede sein. Dies scheint berechtigt auch in Anbetracht des Umstandes, daß gerade bei der Arbeit mit Amöben der Kontakt zwischen den mehr morphologisch und mehr physiologisch orientierten Arbeitsrichtungen besonders gut ist (siehe z. B. WOHLFARTH-BOTTERMANN [49]). Es ist daher zu hoffen, daß die so gewonnenen Resultate auch bei der Erforschung anderer Zelltypen von Nutzen sein werden.

B. Initialphase der Pinocytose: Adsorption und Invagination

Das charakteristische Merkmal der Pinocytose ist die Kombination von Oberflächenadsorption und Invagination, die von BENNETT [4] in seiner Hypothese über Membranfluß und Vesikulation dargestellt wurde. Diese Hypothese hat WITTEKIND [47] in seinem Vortrag auf der 102. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte besprochen; dort ist auch BENNETT's figürliche Darstellung als Abb. 5 wiedergegeben.

BENNETT's Hypothese bezieht sich in erster Linie auf die von PALADE [37] elektronenoptisch nachgewiesene und von vielen Seiten bestätigte „mikropinocytische“ Invagination und Vakuolenbildung. Bei Amöben spielt sich die Pinocytose im lichtmikroskopischen Bereich ab, zumindest in der Hauptsache und unter den Bedingungen unserer Versuche. Abgesehen von den Dimensionen entspricht jedoch auch bei *Amoeba proteus* der Invaginationsprozeß ganz dem einen der beiden von BENNETT skizzierten Fälle: Die mit der adsorbierten Substanz beladene Zellmembran kleidet einen durch Invagination gebildeten Kanal aus (nach BENNETT „fließt“ sie in den Kanal hinein), von dessen Grund dann durch Wandverschmelzung kleine (wenige μ im Durchmesser) Vakuolen abgeschnürt werden, die durch die Cytoplasmastromung über das Endoplasma verteilt werden.

Die initiale Phase der Pinocytose hat somit 3 Aspekte: den adsorptiven Stimulus durch spezifische Induktoren, die Invaginationsreaktion und die Vakuolenbildung. Aus praktischen Gründen wollen wir uns mit diesen drei Aspekten gesondert beschäftigen. Später wird von den nachfolgenden Phasen der Pinocytose die Rede sein, nämlich den Veränderungen der Vakuolen im Zellinneren, ihrer Eingliederung in das Stoffwechselsystem der Zelle, und der Exkretion des Residualmaterials.

I. Adsorption

Zu Beginn der experimentellen Untersuchungen der Amöbenpinocytose ist man davon ausgegangen [24, 25, 28], daß Pinocytose nur als Reaktion auf eine spezifische Stimulation zustande käme, herbeigeführt durch die Anwesenheit bestimmter induzierender Substanzen im Außenmedium. In letzter Zeit mehren sich die Anzeichen dafür [48, 50], daß eine Pinocytosewirksamkeit geringerer Intensität zu den permanenten Lebensäußerungen der Amöben gehört, vielleicht als ein Prozeß der Membraneinschmelzung im Zusammenhang mit der amöboiden Bewegung.

Sehen wir von dieser „Residualpinocytose“ vorläufig ab, bleibt die Tatsache bestehen, daß intensive Pinocytoseprozesse, die im primitiven physiologischen Experiment gemessen werden können, einer Induktion bedürfen. Die Induktion besteht, nach BENNETT's Hypothese, in der Adsorption der Induktorsubstanz an geeignete „Haftpunkte“ der Oberflächenmembran. In Übereinstimmung mit dieser Annahme fanden BRANDT [6] und SCHUMAKER [45] beim Studium der Lokalisation fluoreszierender und radioaktiver Induktoren (Proteine), daß die markierte Substanz als der Oberfläche aufgelagerte Schicht nachgewiesen werden kann.

Der Adsorptionsprozeß wurde dann von BRANDT und PAPPAS [7, 8], NACHMIAS und MARSHALL [32], und CHAPMAN-ANDRESEN [12] mehr eingehend studiert. Es hat sich gezeigt, daß die „Haftsubstanz“ die mucoide Außenschicht der Zellmembran ist, die als Deckschicht auf dem eigentlichen Plasmalemma von LEHMANN [27] und SCHNEIDER und WOHLFARTH-BOTTERMANN [44] nachgewiesen wurde. Die chemische Zusammensetzung dieser Deckschicht ist noch unbekannt, doch dürfte ein saures Polysaccharid [2, 6, 46] aller Wahrscheinlichkeit nach eine wesentliche Komponente sein.

Eine solche Mucoidschicht ist elektronen- und lichtoptisch nicht leicht nachzuweisen und es ist daher nicht bekannt, ob es sich um den Amöben eigentümliche Zellorganellen handelt; doch mehren sich in letzter Zeit Anzeichen für eine sehr allgemeine Verbreitung dieser Struktur (siehe z. B. BELL [3]), und man ist versucht anzunehmen, daß alle der Pinocytose fähigen Zelltypen sie besitzen.

Bei Amöben ist sie jedenfalls in imponierender Entwicklung anzutreffen. MERCER [29], PAPPAS [39] und WOHLFARTH-BOTTERMANN [48] haben nachgewiesen, daß die Mucoidschicht eine komplizierte Struktur besitzt, indem eine dem Plasmalemma anliegende amorphe etwa 200 Å dicke Grundsicht an ihrer Außenseite etwa 2000 Å lange Papillen oder Haare trägt (Abb. 1). Es ist nicht bekannt, ob diese Struktur ein Spezialorgan der pinocytischen Adsorption ist, oder ob sie auch andere Funktionen hat; nachgewiesen ist lediglich [8, 15], daß elektronenoptisch sichtbare Induktoren wie Protein oder Thoriumdioxid an die Papillen und die Außenfläche der amorphen Zone adsorbiert werden (Abb. 2).

Die adsorptive Beladung des Mucoids muß irgendwie die invaginatorische Reaktion des Plasmalemmas oder der Ektoplasmaschicht

verursachen, doch die Überführung des Stimulus, sowie der Mechanismus der Invagination selbst, sind unbekannt.

Etwas besser steht es mit dem Studium der Induktionsspezifität, mit dem sich CHAPMAN-ANDRESEN [10, 11, 12] recht eingehend beschäftigt hat.

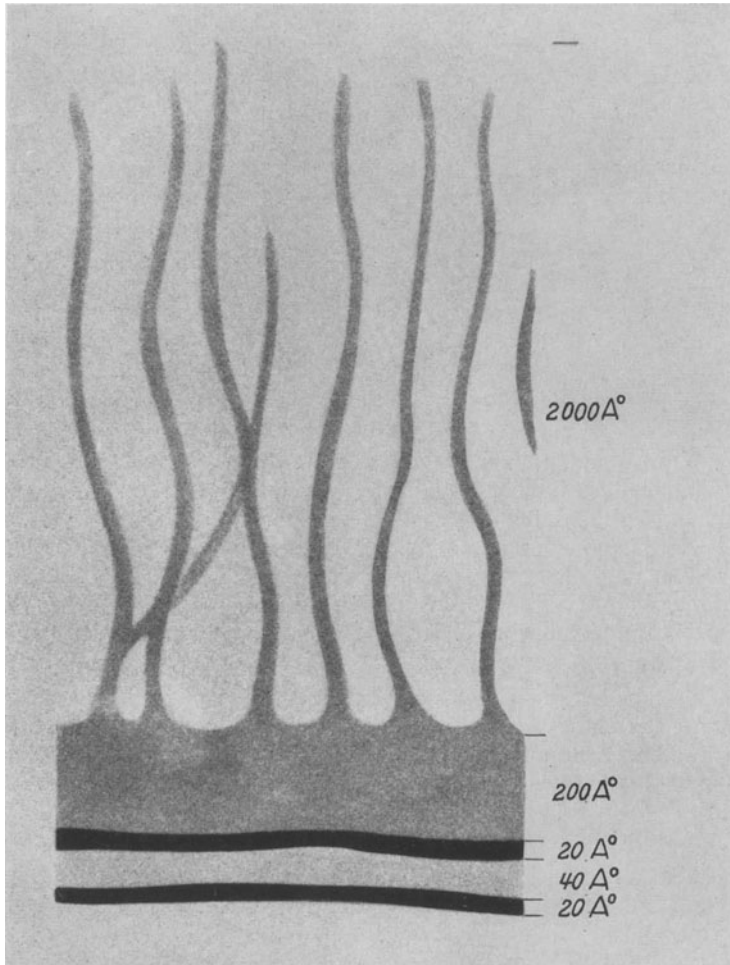


Abb. 1. Diagramm der Zellmembranstruktur von *Chaos chaos*. Die 2000 Å dicke „Papillenschicht“ ist eine Fortsetzung der unterliegenden 200 Å dicken amorphen Zone. Darunter liegt das eigentliche Plasmalemma, eine „unit membrane“-Struktur bestehend aus zwei dichten Linien von je 20 Å, geschieden von einer 40 Å weiten, weniger dichten Zone [8]

Das Hauptresultat dieser Untersuchungen war, daß eine Reihe von Salzen, von Aminosäuren, Proteinen und Farbstoffen Induktionswirkung zeigen, alle abhängig vom pH der induzierenden Lösung. Viele elektrisch neutrale Substanzen, wie Kohlenhydrate, sind wirkungslos. Hieraus

scheint hervorzugehen, daß die elektrische Ladung des Induktors eine wesentliche Rolle für seine Adsorption an die Mucoidschicht spielt. Es gibt aber auch Anzeichen für eine mehr spezifische Wechselwirkung zwischen der Mucoidschicht und der adsorbierten Substanz. So scheinen z. B. Globuline im selben pH-Bereich wirksamer zu sein als Albumine. Solange aber Zusammensetzung und chemische Eigenschaften des Mucoides unbekannt bleiben, scheinen detaillierte Überlegungen solcher Probleme verfrüht.

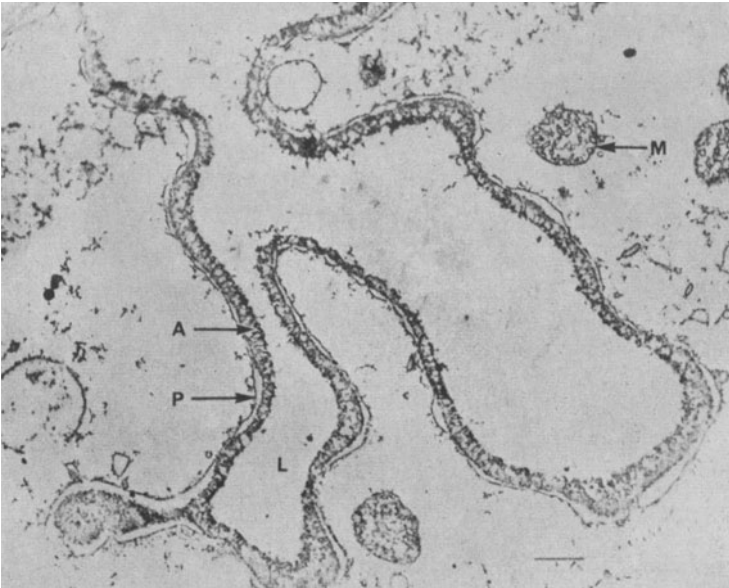


Abb. 2. Längsschnitt durch eine Pinocytoseinvagination von *Amoeba proteus*. Die Schicht der Albumin-beladenen Papillen (A) setzt sich von der Oberfläche in den Kanal fort. Das Lumen (L) ist optisch leer. Plasmalemma (P) und Albuminschicht an einigen Stellen getrennt. Mitochondrien (M) in der Nähe des Kanals. Vergrößerung: 8000mal [15]

CHAPMAN-ANDRESEN [12] fand auch beträchtliche Unterschiede in der Reversibilität der adsorptiven Bindung. Salze werden leicht aus der Mucoidschicht ausgewaschen. Auch Proteine und basische Farbstoffe lassen sich leicht wieder entfernen, wenn das pH der Waschflüssigkeit entsprechend gewählt wird; im allgemeinen genügt eine Erhöhung um etwa 2 pH-Einheiten gegenüber dem Induktionsoptimum (bei den erwähnten Proteinen etwa 4,5; Wasch-pH 6,5). Es gibt aber auch Induktoren, z. B. die „schleimfärbenden“ Farbstoffe der Cu-phthalocyanin-Gruppe (Alcian Blue), welche ganz irreversibel gebunden zu werden scheinen, so daß bis jetzt kein Weg zu ihrer Entfernung gefunden werden konnte. Im Elektronenmikroskop geben diese Farbstoffe Bilder (Abb. 3), die recht verschieden von den nach Proteinadsorption erhaltenen sind (Abb. 2). Es ist nicht bekannt, ob sich dieser Befund generalisieren läßt, und ob er mit dem Umstand der Irreversibilität der Adsorption im Zusammenhang steht.

Bei den Untersuchungen von CHAPMAN-ANDRESEN handelte es sich darum, die Pinocytose-Reaktion auf den Adsorptionsstimulus soweit möglich quantitativ zu messen. Die von CHAPMAN-ANDRESEN zu diesem Zweck ausgearbeitete Methode [12] beruht auf der Zählung der per Oberflächeneinheit der Amöbe gebildeten Invaginations-Kanäle. Diese Messung der Pinocytose-Intensität gibt natürlich angenäherte, aber

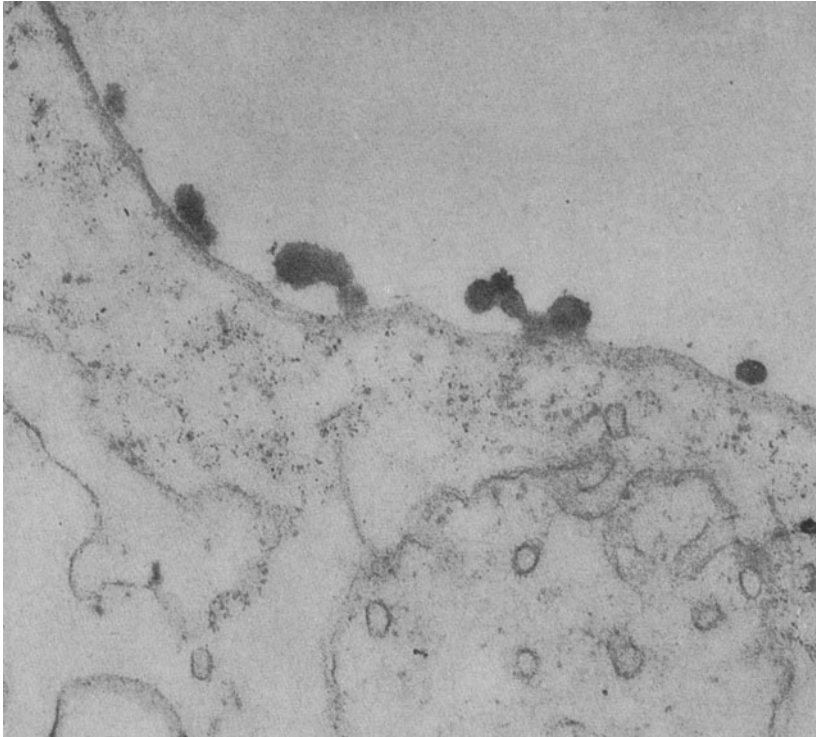


Abb. 3. Zellmembran von *Amoeba proteus* 10 min nach Immersion in Alcian Blue. Der Alcian Blue-Mucoidkomplex der Papillen ist zu Körnchen kontrahiert. Vergrößerung: 43000mal [23]

doch überraschend reproduzierbare (Variationsbreite unter 20%) Resultate. Abb. 4 zeigt ein Histogramm der Durchschnittszahl von beobachteten Kanälchen nach Pinocytoseinduktion mit 0,125 n NaCl-Lösung unter standardisierten Versuchsbedingungen. Abb. 5 gibt die mit Hilfe dieser Methode bestimmte Temperaturvariation der Pinocytoseintensität, als Beispiel für die Art der Messungen, für welche sich die Methode eignet.

Die von der Mucoidschicht aufgenommenen Substanzmengen können erstaunlich groß sein. Einen qualitativen Eindruck hiervon vermittelt schon die Betrachtung der Bilder, die nach der Adsorption von fluoreszierenden Proteinen [6] oder Elektronenkontraststoffen (z. B. [7]) erhalten werden. Quantitativ wurde die Frage meines Wissens nur von CHAPMAN-

ANDRESEN und HOLTER [15] bearbeitet. Wir bestimmten die Menge des von *Amoeba proteus* bei pH 4,5 adsorbierten und bei pH 6,5 abwaschbaren Serumalbumins (mit ^{131}I markiert) und fanden unter optimalen Bedingungen $9 \times 10^{-2} \mu\text{g}$ pro Amöbe. Dies entspricht etwa 60% des Trockengewichtes der Amöbe. Die Dicke der adsorbierten Schicht kann

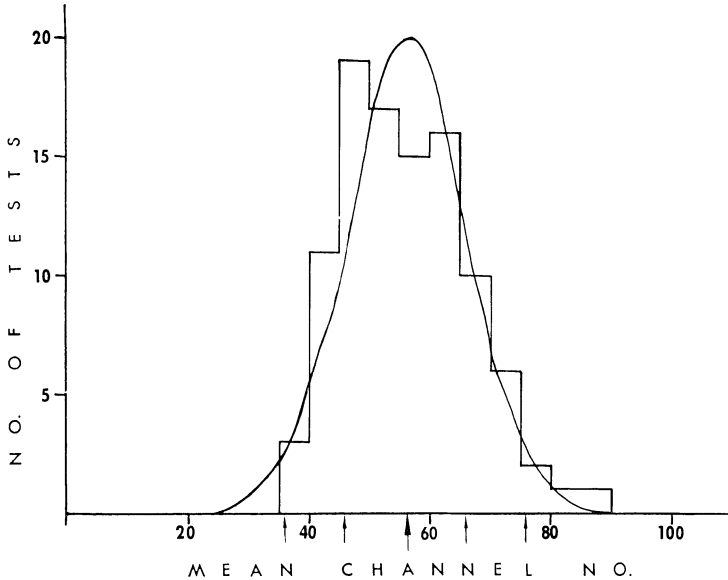


Abb. 4. Histogramm der Verteilung der durchschnittlichen Kanalzahl per *Amoeba proteus* nach Immersion in 0,125 n NaCl korrigiert auf Standard-pH 6,5 und Standardtemperatur 21, 5° C. Die Kurve bezeichnet die berechnete Normalverteilung der Werte [12]

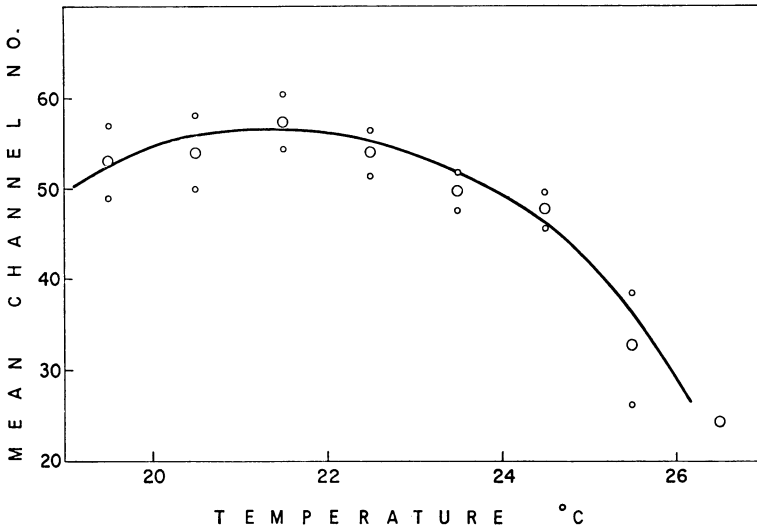


Abb. 5. Temperatur-Abhängigkeit der Zahl von in 0,125 n NaCl gebildeten Pinocytosekanälen per *Amoeba proteus*, korrigiert auf pH 6,5. Große Kreise: Durchschnittswert; kleine Kreise: Standardstreuung [12]

auf etwa $0,3 \mu$ geschätzt werden. Eine solche Schätzung beruht natürlich auf sehr vereinfachenden, wahrscheinlich abwegigen, Annahmen über Proteinhydratation und Oberflächenareal der Amöben und muß daher mit Skepsis betrachtet werden. Immerhin aber stimmt sie größenordnungsmäßig überein mit der anscheinenden Dicke der proteinbeladenen Mucoidschicht, die man von Bildern wie Abb. 2 ablesen kann.

II. Invagination und Vakuolenbildung

Es wird allgemein angenommen, daß die Adsorption eine notwendige Vorbedingung der Invagination sei. Ob sie aber auch eine ausreichende Bedingung hierfür ist, wissen wir nicht. Es ist mit anderen Worten unbekannt, ob jede adsorptive Beladung der Mucoidschicht Invaginationen auslöst, oder ob dies nur geschieht, wenn bestimmte, „invaginationsspezifische“ Substanzen adsorbiert werden.

Auch die Annahme, daß Invaginationen *nur* nach vorhergehender Adsorption einer spezifischen Induktorsubstanz auftreten, läßt sich möglicherweise nicht aufrechterhalten. WOHLFARTH-BOTTERMANN [48] hat gefunden, daß die Pinocytose bei der *Limax*-Amöbe *Hyalodiscus* kontinuierlich, ohne experimentelle Induktion vor sich geht, wenn auch wahrscheinlich mit geringerer Intensität als im offensichtlich induzierten Prozeß. Wir müssen also entweder annehmen, daß im normalen Medium von *Hyalodiscus* Induktoren in geringen Mengen vorhanden sind (vielleicht von der Amöbe selbst gebildet werden) oder wir müssen die Hypothese fallen lassen, daß die adsorptive Veränderung der Mucoidschicht (welche *Hyalodiscus* in schöner Ausbildung besitzt) eine notwendige Bedingung des Invaginationsmechanismus sei.

Die letztere Annahme ist mehr oder weniger stillschweigend von mehreren Autoren gemacht worden. Es ist ja verhältnismäßig leicht, sich eine Veränderung der Oberflächenspannung als Folge der Adsorption vorzustellen; wie diese veränderte Oberflächenspannung aber zur Invagination führen sollte, leuchtet nicht unmittelbar ein. — Ausführlicher ist ein Vorschlag von BRANDT [6], in dem angenommen wird, daß das Plasmalemma nur in gewissen Punkten fest mit dem unterliegenden Ektoplasma (Plasmagel) verbunden bleibe. Die Invagination käme dann zustande entweder durch Vorfließen von Plasmasol am fixierten Areal vorbei, oder durch Retraktion des Plasmagels, oder eine Kombination dieser Effekte. HAYWARD [23] hat am Grunde von Invaginationen Zonen von besonders dichtem, granulärem Cytoplasma beobachtet, die vielleicht mit BRANDT's Vorschlag in Beziehung stehen könnten.

Wollen wir aber ehrlich sein, so müssen wir zugeben, daß die Anhaltspunkte für auch nur einigermaßen wohlfundierte Annahmen über den Invaginationsmechanismus gegenwärtig einfach noch nicht existieren.

Auch über den Energieverbrauch der Invaginationreaktion wissen wir sehr wenig. SCHUMAKER [45] und DE TERRA und RUSTAD [20] haben nachgewiesen, daß die Invagination (nicht aber die Adsorption) vom oxydativen Amöbenstoffwechsel abhängig ist und durch Stoffwechselgifte gebremst werden kann. Damit würde übereinstimmen,

daß gelegentlich [16] eine räumliche Assoziation von Mitochondrien und Pinocytosekanälen beobachtet wurde. Weitgehende Rückschlüsse auf den Invaginationsmechanismus lassen aber auch diese Befunde nicht zu.

Die Invagination in Amöben ist morphologisch recht variabel [17], abhängig von der Art des verwendeten Induktors (Abb. 6). Am häufigsten sind 1–2 μ weite Kanäle mit einigermaßen parallelen Wänden

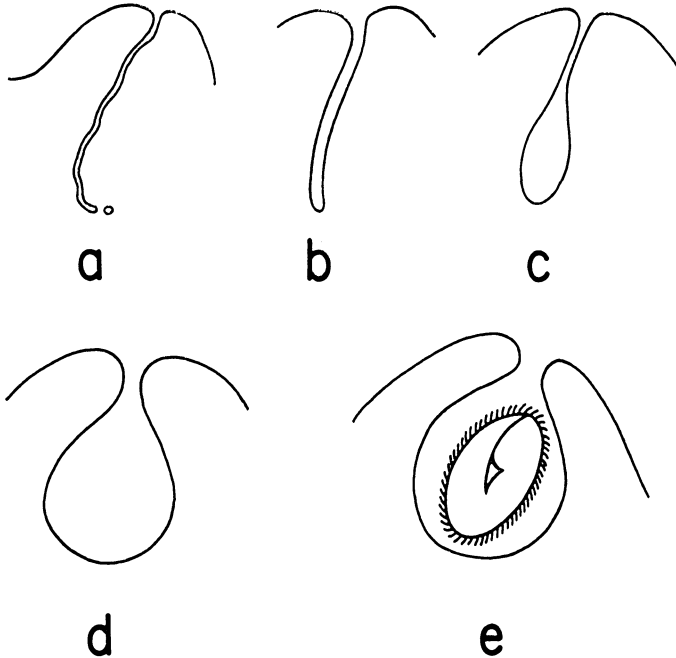


Abb. 6. Diagramm verschiedener Invaginationstypen, erhalten in verschiedenen Induktoren mit *Amoeba proteus*. a Pinocytosekanal in Salzlösung; b Pinocytosekanal in Tabakmosaikvirus; c Flaschenförmiger Hohlraum in Tabakmosaikvirus; d Flaschenförmiger Hohlraum in Methionin; e Phagozytische Invagination [17]

(Type a und b; in Salz- und Proteinlösungen) während die in Virus- und gewissen Farbstofflösungen erscheinenden „Flaschen“-Kanäle (Type c und d) sich in extremen Fällen in Form und Dimensionen den phagozytischen Invaginationen nähern können (Type e).

Die in Abb. 6 schematisch dargestellten Formen dürfen jedoch nicht als feste Strukturen angesehen werden. Bei Lebendbeobachtung und besonders im Zeitrasterfilm bemerkt man peristaltische Bewegungen [12], welche bläschenartige Erweiterungen des Kanals zelleinwärts zu befördern scheinen. Diese Peristaltik ist schon von MAST und DOYLE [28], den Entdeckern der Amöben-Pinocytose, beobachtet worden, wie aus ihrer von WITTEKIND [47] als Abb. 6 wiedergegebenen Zeichnung klar hervorgeht.

Der Mechanismus dieser Peristaltik ist ebenso unbekannt wie der Mechanismus der Invagination selbst. Doch sei darauf hingewiesen, daß

das von HAYWARD [23] beobachtete dichte, granuläre Cytoplasma (Abb.7) bisweilen auch in der Halszone der Kanäle auftritt und vielleicht mit den peristaltischen Kontraktionen in Verbindung gebracht werden könnte. REICHSTEIN-NILSSON [41] hat ähnliche Cytoplasmastrukturen in der Mundregion von *Tetrahymena* nachgewiesen, dort wo die Nahrungsvakuolen abgeschnürt werden.

Die Lebenszeit der einzelnen Invagination ist bei *Amoeba proteus* im Durchschnitt etwa 2 min [12]. Auch die Gesamtdauer der Pinocytose-

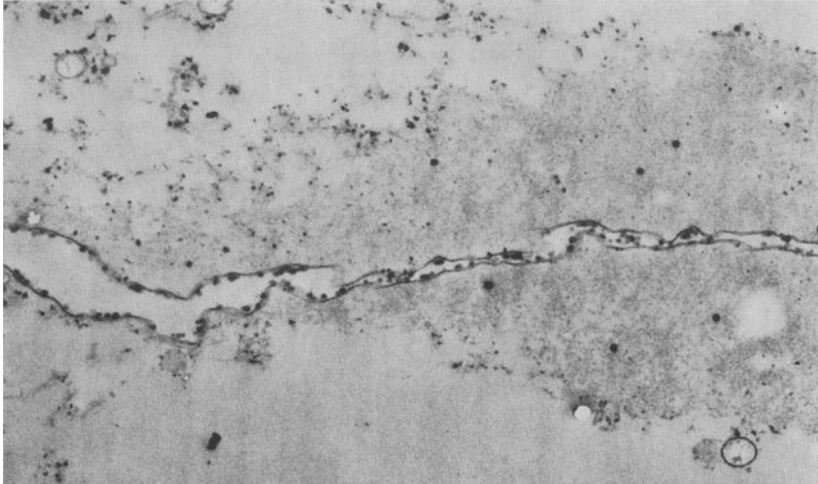


Abb. 7. Kanalhals in *Amoeba proteus* nach Alcian Blue. Der Farbstoff-Mucoidkomplex an der Innenwand erkennbar. Die betreffende Kanalstrecke ist umgeben von dichtem, granulärem Cytoplasma, wie es auch am in Abb.10 dargestellten Kanalboden auftritt. Vergrößerung: 13000mal [23]

reaktion ist begrenzt. Sie dauert etwa 20 min [12], gerechnet vom Zeitpunkt der Einbringung der Amöbe in die Induktorlösung. Beim Ablauf eines solchen „Pinocytosezyklus“ scheint die Amöbe ein Sättigungsstadium zu erreichen, und auch die Überführung in neue Induktorlösung verursacht nicht die Wiederaufnahme der Pinocytoseaktivität, wenn man der Amöbe nicht dazwischen Zeit gibt, sich zu erholen.

CHAPMAN-ANDRESEN [13] hat dieses Sättigungsphänomen genauer untersucht und ist zu dem Schluß gekommen, daß die Erschöpfung des für die Pinocytose verfügbaren Membranareales der begrenzende Faktor ist. Ihre Ergebnisse deuten darauf hin, daß nur etwa die Hälfte der gesamten Amöbenoberfläche (gemessen im monopodialen, kriechenden Stadium) durch Invagination und Vakuolenabschnürung ins Zellinnere überführt werden kann. Wenn dieser Grenzwert erreicht ist, kann kein weiterer Induktionsreiz die Wiederaufnahme der Pinocytose erzwingen. Unterbricht man vor Erreichen dieser Grenze den aktiven Pinocytosezyklus durch kurzes Waschen und Überführung in neue Induktionslösung, so bleibt die Summe der in beiden Perioden gebildeten

Kanäle stets gleich, unabhängig davon, in welchem Verhältnis die Gesamtimmersionszeit aufgeteilt wurde (Tab. 1).

Der so erreichte Grenzwert der Gesamtkanalzahl ist nach CHAPMAN-ANDRESEN auch weitgehend unabhängig von der Art des verwendeten Induktors. In mehr qualitativer Weise geht dies sogar soweit, daß Phagocytose und Pinocytose einander ersetzen können. Eine zu voller Sättigung mit *Tetrahymena* gefütterte Amöbe reagiert praktisch nicht auf die Einbringung in eine Pinocytose-Induktorlösung und umgekehrt.

Tabelle 1. *Amoeba proteus*, Pinocytose in 0,125 n NaCl. Wirkung der Dauer der ersten Induktionsperiode auf die Pinocytoseintensität während der zweiten Induktionsperiode

Gruppe Nr.	Immersionszeit		Kanäle pro Amöbe		
	1. Periode	2. Periode	1. Periode	2. Periode	Gesamtzahl
1	21	20	63,7	3,5	67,2
2	12	20	39,0	9,8	48,8
3	7	20	8,6	48,6	57,2
4	4	20	2,5	63,2	65,7

4 Gruppen von Amöben wurden die in Kolonne 2 gezeigte Zeit in der Induktionslösung belassen, 20 min in Normalmedium übergeführt und dann wieder 20 min in die Induktionslösung eingebracht. Kanalzahlen sind Durchschnittswerte der Zählung an 10 Amöben [13].

Diese Versuche besagen nichts darüber, ob der Grund für das Sättigungsphänomen mechanischer oder physiologischer Art ist; doch kann die Annahme der für die Pinocytose nur in begrenzten Mengen „zur Verfügung stehenden“ Membran natürlich nur einen Sinn haben, wenn von einer eventuellen Neubildung von Membran während des Pinocytosezyklus quantitativ abgesehen werden kann. Dies ist einer der Gründe für die Vermutung, daß die permanent verlaufende „Residualpinocytose“ von wesentlich geringerer Intensität sein muß als die induzierte Pinocytose. Außerdem ist zu beachten, daß *Amoeba proteus* und *Chaos chaos* in intensiver Pinocytose die Kriechbewegung einstellen und eine typische stationäre Rosettenform annehmen.

Unter der Annahme also, die Membranbildung vernachlässigen zu können, hat CHAPMAN-ANDRESEN auf Grund der bekannten Kanalzahl und der geschätzten Zahl der pro Kanal abgeschnürten Vakuolen das Gesamtareal der während des Pinocytosezyklus ins Zellinnere überführten Oberflächenmembran berechnet, wobei sie zu dem oben genannten Wert von etwa 50% gelangte.

Die Erholungszeit, d. h. die Zeit, nach welcher die Amöbe auf einen neuen pinocytischen Reiz mit annähernd der ursprünglichen Intensität reagiert, wurde ebenfalls von CHAPMAN-ANDRESEN [13] untersucht. Bei Zimmertemperatur und in normalem Kulturmedium ist diese Zeit etwa 4 Std, während welcher die Amöbe ihren Habitus von der Pinocytoserosette durch eine Reihe von Übergangsstadien zurück zu der monopodialen Form umwandelt (Abb. 8). Morphologisch und pinocytisch scheint der Erholungsvorgang also parallel abzulaufen.

Den gemachten Annahmen zufolge würde dieser Befund also besagen, daß die von der Zelloberfläche verschwundene Membran während 4 Std resynthetisiert oder in anderer Weise an die Oberfläche zurückgeliefert werden kann. Es ist natürlich nicht leicht, schlüssige Beweise für die Richtigkeit dieser Auslegung zu finden, doch sei darauf hingewiesen, daß WOLPERT und O'NEILL [50], die ebenso wie WOHLFARTH-BOTTERMANN [48] eine ständige pinocytische Membraneinschmelzung

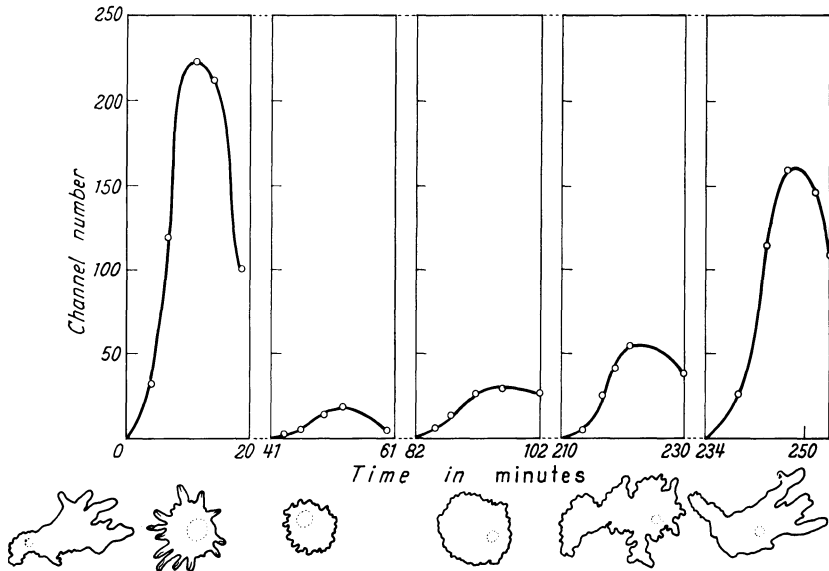


Abb. 8. Erholung von *Amoeba proteus* nach intensiver Pinocytose in 0,125 n NaCl. Ordinate: Kanalzahl per Versuchsgruppe von 10 Amöben. Abscisse: Zeit nach Immersion in die erste Induktorlösung. Die Umrißzeichnungen von Amöben sind nach Photographien schematisiert. Die erste Kurve gibt die Pinocytoseaktivität während der ersten Induktionsperiode. Die folgenden Kurven zeigen die Reaktionen während der jeweiligen zweiten Immersion in den Induktor. Morphologisch illustrieren die Zeichnungen den Übergang vom monopodialen Stadium (links) durch Pinocytose- und Verdauungsstadien zurück zum monopodialen (rechts) [13]

während der amöboiden Bewegung annehmen, und zwar bei *Amoeba proteus* in der Größenordnung von 0,2% pro Minute, auf Grund dieser Annahme eine Restitutionszeit von 4,2 Std für 50% der Amöbenmembran berechnen, also denselben Wert, den CHAPMAN-ANDRESEN von ganz anderen Voraussetzungen her fand.

Die für die Abschätzung der eventuellen physiologischen Bedeutung des Pinocytoseprozesses interessanteste Frage ist die nach den Stoffmengen, die in die Pinocytosevakuolen aufgenommen werden. CHAPMAN-ANDRESEN und HOLTER [15] haben dieses Problem an *Amoeba proteus* untersucht und haben dabei, um zwischen adsorbiertem Material und miteingeschlossener Lösung unterscheiden zu können, zwei Isotopmarkierte Substanzen angewendet, nämlich ^{131}I -Serumalbumin und ^{14}C -Glukose. Das Albumin ist der Induktor und wird als solcher an das Mucoïd der Zellmembran gebunden. Glukose ist, wie wir früher [14]

gefunden haben, kein Induktor und wird nicht adsorbiert. Wir nahmen daher an, daß die zusammen mit Albumin aufgenommene Glukosemenge als Maß für das gleichzeitig mit dem Induktor aufgenommene Lösungsvolumen angesehen werden könne. Durch Bestimmung des Verhältnisses ¹³¹I/¹⁴C im induzierenden Medium und in der Amöbe (nach Abwaschen der nur an die Oberfläche adsorbierten Substanzmengen) erhält man somit ein Maß für die Effektivität der Pinocytose in der Abtrennung und Anreicherung der induzierenden Substanz.

Wie Tab. 2 zeigt, ist die Pinocytose in dieser Beziehung bemerkenswert effektiv. Der relative Albumingehalt des von der Amöbe aufgenommenen Materials ist mindestens 10mal höher als der der zur Induktion verwendeten Lösung.

Auch in absolutem Maß ist die aufgenommene Substanzmenge erstaunlich groß, indem das im 20 min langen Pinocytosezyklus in die Amöbe beförderte Protein 40% des Trockengewichtes der Amöbe entspricht. Im Gegensatz dazu steht das miteingeschlossene Flüssigkeitsvolumen von nur etwa 2% des Amöbenvolumens.

So, wie die Pinocytose unter den hier gewählten, für massive Adsorption und Induktion optimalen

Tabelle 2. *Amoeba proteus*, Pinocytose in 2% ¹³¹I-Serumalbumin, 0,04% ¹⁴C-Glukose bei pH 4.4. Pinocytoseintensität (für 1 Amöbe) bestimmt durch Kanalzählung an 10 Amöben durch 20 min (Kolonie 8). Werte für Protein- und Glukoseaufnahme gelten für 1 Amöbe (gemessen an 30 Amöben). Die Induktorkonzentration enthielt pro μ l: $5,8 \times 10^2 \mu$ C ¹³¹I, $7,7 \times 10^2 \mu$ C ¹⁴C. Zählerwerte gegeben in c.p.m. (counts per min)

Temperatur des Induktors	Kanalzahl	pH der Waschlösung	Immer-sionszeit (min)	Proteinaufnahme			Glukoseaufnahme				
				c.p.m.	μ C $\times 10^6$	μ g $\times 10^4$	c.p.m.	μ C $\times 10^6$	μ g $\times 10^4$		
24.1	47	4.4	1	188 ± 28	325 ± 42	1118 ± 166	3.6 ± 0.6	14 ± 4.4	0.70 ± 0.12		
			15	353 ± 65	620 ± 56	2100 ± 386	11 ± 5.6	41 ± 8	2.15 ± 1.09		
			15	54 ± 11	93 ± 18	321 ± 65	0.3 ± 0.2	1.2 ± 0.9	0.06 ± 0.04		
		3.8	0	4.4	15	156 ± 32	270 ± 38	928 ± 190	7.2 ± 0.2	27 ± 6	1.40 ± 0.04
					1	166 ± 12	287 ± 39	987 ± 71	3.3 ± 1.2	12 ± 4	0.64 ± 0.23
					15	200 ± 26	346 ± 43	1190 ± 155	6.4 ± 1.1	24 ± 6	1.25 ± 0.22
3.8	0	6.2	1	17 ± 3.5	29 ± 6	101 ± 21	1.7 ± 0.7	6.5 ± 4.2	0.33 ± 0.14		
			15	60 ± 18	104 ± 19	367 ± 110	4.3 ± 0.5	16 ± 5	0.88 ± 0.10		

9*

¹³¹I/¹⁴C im Induktor: 0,755.

An Oberfläche adsorbiert (μ C $\times 10^6$): ¹³¹I 270, ¹⁴C 10; ¹³¹I/¹⁴C: 27; Protein-Anreicherungs-faktor: 36x. Durch Pinocytose aufgenommen (μ C $\times 10^6$): ¹³¹I 169, ¹⁴C 16; ¹³¹I/¹⁴C: 11; Protein-Anreicherungs-faktor: 14 \times [15]

Versuchsbedingungen verläuft, entspricht sie jedenfalls nicht ihrem Namen; sie ist kein „Trinken der Zelle“.

In der Bewertung dieses Befundes muß man sich jedoch vor Augen halten, daß die Pinocytose unter den Bedingungen dieser Versuche kaum mehr als normale Zellenaktivität betrachtet werden kann. Die Ingestion so großer Proteinmengen in 20 min hat leicht beobachtbare pathologische Wirkungen, welche nicht alle Zellen überleben. Solche „Spitzenpinocytose“ ist durch hochkonzentrierte Induktorlösungen mit pH-Werten außerhalb des physiologischen Bereiches bedingt. Andererseits kennen wir, wie schon erwähnt, eine „Residualpinocytose“, die ohne spezifische Induktion zu verlaufen scheint, vielleicht nur der Membraneinschmelzung dient und jedenfalls als permanent verlaufender, höchst normaler Lebensprozeß gedeutet werden muß. Wo zwischen diesen beiden Extremen der eventuelle Bereich einer physiologisch signifikanten, von der Amöbe gut und permanent vertragenen pinocytischen Substanzzufuhr zu suchen ist, wäre noch durch geeignete Versuche zu prüfen.

Vorläufige und unsystematische Fütterungsversuche mit ausschließlich pinocytischer Nahrungszufuhr haben jedenfalls ergeben, daß die typische Hungerdegeneration der Amöben beträchtlich hinausgeschoben werden kann. Es ist aber bis jetzt noch nie gelungen, durch Pinocytose ernährte Amöben zur Teilung zu bringen.

C. Die endoplasmatische Vakuole

Sobald die pinocytischen Vakuolen sich von der Oberflächenmembran gelöst haben und ihr „Eigenleben“ im Cytoplasma beginnen, erleiden sie eine Reihe von Veränderungen, von denen nicht alle morphologisch nachweisbar sind. Vom physiologischen Standpunkt aus gesehen, muß diese vakuoläre Phase wohl als der entscheidende Abschnitt der Endocytose angesehen werden. Während dieser Phase muß die invaginierte Zellmembran, die jetzt die Vakuolen auskleidet, irgendwie so umgewandelt werden, daß sie ihre ursprüngliche weitgehende Impermeabilität verliert und den Kontakt zwischen den vakuolisierten Substanzen und dem Stoffwechselsystem der Zelle ermöglicht.

Der anscheinend am nächsten liegende Weg zur Realisierung dieses Kontaktes wäre das Verschwinden der Membran durch enzymatische oder andere Einflüsse, wodurch der Vakuoleninhalt ohne weiteres bloßgelegt würde. Ein solcher Vorgang ist denn auch von BENNETT [4] in seiner oben erwähnten Hypothese angenommen worden. Die einzige mir bekannte wohlbelegte experimentelle Bestätigung dieser Annahme rührt von WOHLFARTH-BOTTERMANN [48] her, der in *Hyalodiscus simplex* zwar nicht das Verschwinden, wohl aber eine Fragmentierung der Membran pinocytischer Vakuolen nachgewiesen hat. Ähnliche Befunde an anderen Objekten wurden auf Kongressen häufig diskutiert mit dem Ergebnis, daß es sehr schwierig zu sein scheint, die Möglichkeit von Artefakten bei solchen Befunden gänzlich auszuschließen. Eine

endgültige Entscheidung dieser ungemein wichtigen Frage wäre äußerst wünschenswert.

Bei *Amoeba proteus* und der ihr nahestehenden *Chaos chaos* ist es uns nie gelungen, wirklich überzeugende Belege für Verschwinden oder Fragmentierung der Vakuolenmembran zu finden, wohl aber haben wir eine Reihe von Indikationen dafür, daß die digestiven Veränderungen pinocytisch zugeführter Substanzen sich im allgemeinen innerhalb der Vakuolen abspielen. Wir neigen daher bis auf weiteres zu der Anschauung, daß die zellphysiologisch sehr weitreichende Annahme des gänzlichen Verschwindens der Membranbarriere noch verfrüht wäre, und beschränken uns auf die Betrachtung der anderen Umwandlungen, welche an Pinocytosevakuolen beobachtet worden sind. Es handelt sich um folgende: 1. Sichtliche Veränderungen der Vakuolenwand und ihrer Auskleidung. — 2. Oberflächenvergrößerung durch Unterteilung und Verzweigung. — 3. Vakuolenkoaleszenz. — Alle drei Erscheinungen sind wichtig für das Problem des Substanztransportes durch die Vakuolenmembran.

I. Vakuolenwand

Wie schon früher erwähnt, ist das Plasmalemma der Amöben eine dreischichtige Membran, welche — wengleich möglicherweise mit einiger Vergrößerung [49] — im wesentlichen der Definition einer „unit-membrane“ entspricht. Alle Beobachter sind sich darüber einig, daß das Plasmalemma zumindest während der initialen Invaginationsphasen unverändert bleibt, so daß zwischen dem „Außenplasmalemma“, und der Bekleidung der Invaginationskanäle sowie der frisch abgeschnürten Vesikel elektronenoptisch keine Unterschiede nachgewiesen werden können [8, 48].

Dasselbe gilt bis zu einem gewissen Grad für das elektronenoptische Bild der dem Plasmalemma überlagerten Mucoidschicht. Auch hier findet man oft, und anscheinend besonders dann, wenn keine massive Adsorption stattgefunden hat, Aussehen und Dichte des Mucoid-Haarkleides in Kanälen und Vesikeln unverändert bewahrt [8, 48]. Ist die Mucoidschicht aber durch Adsorption mit Fremdstoffen beladen, so scheint sie instabil zu werden, und man beobachtet oft ein Abstoßen der Mucoidschicht vom Plasmalemma. Diese „Häutung“ kann schon kurz nach der Adsorption eintreten, noch bevor die Invagination stattgefunden hat [7], öfter geschieht sie im Invaginationskanal [23], und zur Regel wird sie nach der Abschnürung der Pinocytosevakuolen [8, 32]. Der Häutungsprozeß hinterläßt die Vakuolenmembran nackt, aber sonst anscheinend unverändert. Da es unbekannt ist, ob die Gegenwart der Mucoidschicht die Permeabilitätseigenschaften der Zellmembran beeinflußt, kann auch nichts darüber ausgesagt werden, ob die Permeabilität durch die Häutung verändert wird. Die abgestoßene Schicht von Mucoid und Induktor liegt frei im Lumen der Vakuole, oft unter Beibehaltung der ursprünglichen Flächenstruktur (Abb. 9).

Die Abstoßung der Mucoidschicht scheint zeitlich mit dem von MÜLLER und RAPPAY [37] berichteten Verlust der PAS-Reaktion zusammenzufallen.

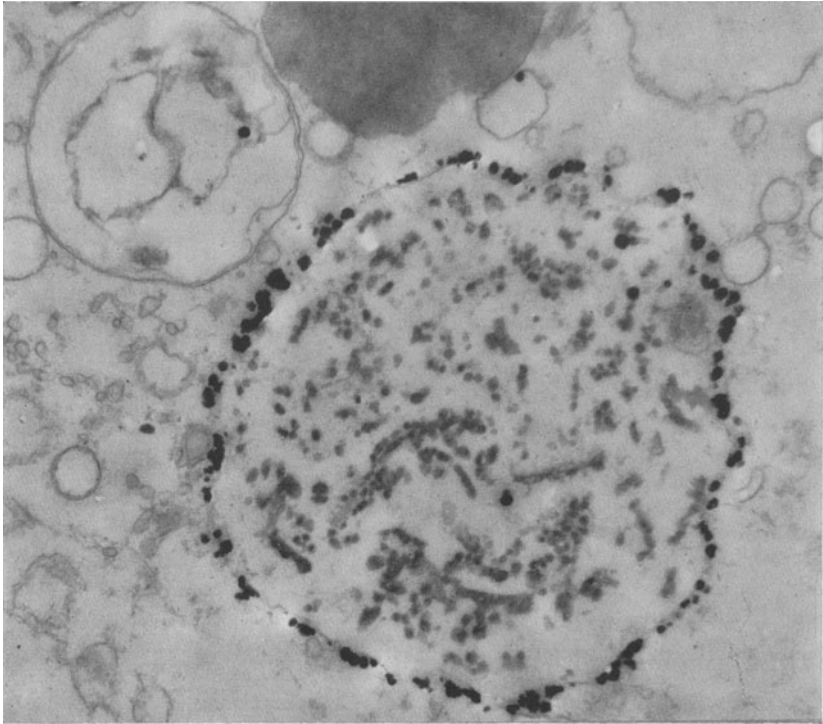


Abb. 9. Vakuole 1 Std nach Alcian Blue-Immersion. Das Lumen enthält große Mengen des Induktor-Mucoidkomplexes, zum Teil noch linear geordnet, wie er von der Membran abgestoßen wurde. Die Außenseite der Vakuolenwand ist besetzt mit den von vielen Autoren beschriebenen dichten Körnchen unbekannter Zusammensetzung. Vergrößerung: 12000 mal [23]

II. Vergrößerung der Vakuolenoberfläche

BRANDT und PAPPAS [8] und HAYWARD [23] beschreiben die Bildung von Verzweigungen und fingerförmigen Erweiterungen der Pinocytosevakuolen, die zu einer beträchtlichen Vergrößerung der Vakuolenoberfläche führen. Diese Digitation kann, wie Abb. 10 zeigt, ebenso wie die Mucoidhäutung schon vor der Abschnürung der Vakuolen am Grunde des Invaginationskanals auftreten.

In späteren Stadien kann dieses Phänomen zu labyrinthartigen Strukturen führen [8, 23], in welchen die interdigitierten Lumina der Pinocytosevakuolen nur erkannt werden können, wenn sie durch geeignete Induktorsubstanzen gekennzeichnet sind.

Ein anderer zur Oberflächenvergrößerung führender Vorgang ist die Unterteilung der Vakuolen durch Bildung kleiner (0,2–0,5 μ Durchmesser) Sekundärvakuolen. Sie entstehen an der Peripherie der ur-

sprünglichen Vakuolen durch einen Prozeß, der von MERCER [29] „Knospung“, von ROTH [43] „Mikropinocytose“ genannt wurde. ROTH hat diese Erscheinung an den Nahrungsvakuolen von Amöben studiert, NACHMIAS und MARSCHALL [32] haben ihn an Pinocytosevakuolen



Abb. 10. Boden eines Pinocytosekanales, 5 min nach Immersion in Alcian Blue. Die fingerförmigen Fortsätze sind vom früher erwähnten dichten Cytoplasma umgeben. Im Lumen Induktor-Mucoidkomplex. Vergrößerung: 33000mal [23]

wiedergefunden. CHAPMAN-ANDRESEN und NILSSON [16] meinen, daß solche Mikropinocytosevakuolen schon an den Invaginationskanälen auftreten können.

ROTH [43], der sich am eingehendsten mit der Mikropinocytose beschäftigt hat, kommt auf Grund seiner Berechnungen zu der Ansicht, die dadurch herbeigeführte Oberflächenvergrößerung der Vakuolen sei so groß (ein Faktor von etwa 300), daß sie allein genüge zur

Erklärung einer wesentlichen Erhöhung der Permeation des Vakuoleninhaltes. Seiner Meinung nach ist es also unnötig, spezifische, zu erhöhter Permeabilität führende Veränderungen der Membranstruktur anzunehmen.

Derartige Veränderungen sind jedoch morphologisch gefunden oder zumindest angedeutet worden. WOHLFARTH-BOTTERMANN [48] schreibt (von *Hyalodiscus*): „Nicht selten findet man aber auch bei deutlich quer geschnittenen Membranen von Pinocytose-Bläschen einen kontinuierlich abnehmenden Elektronenkontrast, wobei gleichzeitig die Doppelschichtigkeit der Membranen immer undeutlicher wird. Es muß daher mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die durch Pinocytose ins Endoplasma gelangten Zellmembranen hier in einfache cytoplasmatische Membranen mit gleichem oder geringerem Elektronenkontrast übergehen.“

Derartige Beobachtungen nähern unser Problem dem umfassenden Fragenkomplex der intracellulären Membranbildung, der ja für das Verständnis von so beträchtlichen Oberflächenvergrößerungen wie den hier angenommenen, von entscheidender Bedeutung wäre. Leider wissen wir sehr wenig darüber [49], und es kann daher nicht näher darauf eingegangen werden.

Eine alternative Deutung der Mikropinocytose [23] wird im nächsten Abschnitt erwähnt.

III. Vakuolenverschmelzung

Ebenso physiologisch wichtig und morphologisch auffallend wie die eben besprochenen Vorgänge des Oberflächenwachstums ist die Erscheinung der Vakuolenverschmelzung, die zu einer Oberflächenreduktion führt. Die Verschmelzung von membranbegrenzten Cytoplasma-Inklusionen ist nicht auf Endocytose-Vakuolen beschränkt und ist meiner Meinung nach ein ganz wesentlicher Vorgang der intracellulären Dynamik, da sie möglicherweise einen der wichtigsten Verbindungspfade im Transport der Metaboliten darstellen könnte. Die Verschmelzung von Vakuolen und Organellen unterschiedlicher Herkunft wird später besprochen werden, im Zusammenhang mit der Beziehung zwischen Endocytosevakuolen und Lysosomen. Vorläufig wollen wir uns auf die Verschmelzung der Pinocytosevakuolen untereinander beschränken.

Gleich nach der Aufnahme sind die Pinocytosevakuolen bei *Amoeba proteus* und *Chaos chaos* alle ziemlich gleich groß, etwa 2μ im Durchmesser. Diese Gleichartigkeit dauert aber nicht lange; wenn die Vakuolen durch den Cytoplasmastrom in engen Kontakt miteinander gebracht werden, verschmelzen sie oft, und das Ergebnis ist das Bild von Vakuolen sehr verschiedener Größe, welches man bei der Betrachtung von mit fluoreszierenden Proteinen gefütterten Amöben normalerweise sieht [25]. Im Zeitrafferfilm kann die Verschmelzung sowohl bei Amöben wie bei anderen Zellen direkt beobachtet werden.

Wir sehen also, mehr oder weniger gleichzeitig, zwei entgegengesetzt gerichtete Prozesse im Endoplasma verlaufen: der eine führt zum Wachs-

tum, der andere zur Verminderung der Oberfläche der Pinocytosevakuolen.

Mit dem letzteren Vorgang, dem der Oberflächeneinschmelzung, hat sich HAYWARD [23] gelegentlich der Diskussion seiner elektronenoptischen Befunde recht eingehend beschäftigt. Er betrachtet drei

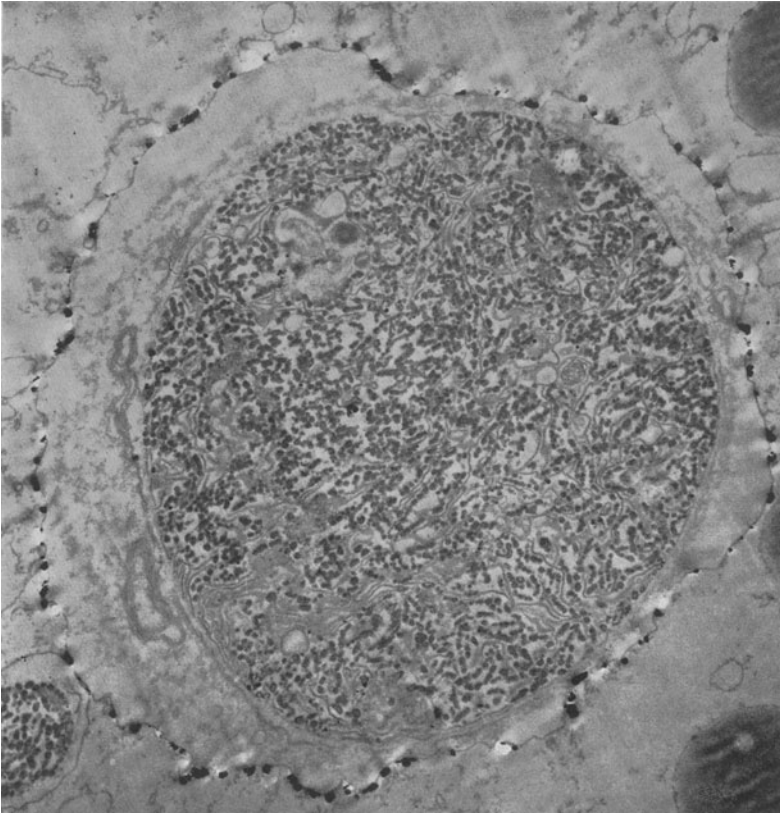


Abb. 11. Große Verschmelzungsvakuole 6 Std nach Alcian Blue-Immersion. Die zentrale sphärische Masse besteht aus Induktor-Mucoidkomplex und Membran. Die Außenwand besetzt mit den dichten Körnchen (vgl. Abb. 9). Vergrößerung: 9000 mal [23]

verschiedene Erscheinungen als wahrscheinliche Folgen der Vakuolenverschmelzung:

Eine ist die wiederholte Einfaltung und Überführung der Membran in das Lumen der Vakuole, wodurch Bilder von der Art des in Abb. 11 gezeigten entstehen.

Die zweite Möglichkeit ist die Abstoßung überschüssiger Membran durch Bildung mikropinocytischer Vesikel (Abb. 12). Diese Interpretation des Mikropinocytoseprozesses ist also sehr verschieden von ROTHs [43] Anschauungen.

Die dritte Möglichkeit der Umwandlung überschüssiger Membran ist nach HAYWARD's Vorschlag die des enzymatischen Abbaues. HAYWARD begründet diese Vermutung mit dem Auftreten gewisser laminärer Strukturen in den Vakuolen, welche er als freie Phospholipide ansieht. HAYWARD nimmt an, daß diese Strukturen von aus Protein und Phospholipid bestehenden Membranen herkommen, und durch selektive intravakuoläre Verdauung des Proteinanteils gebildet sein mögen.

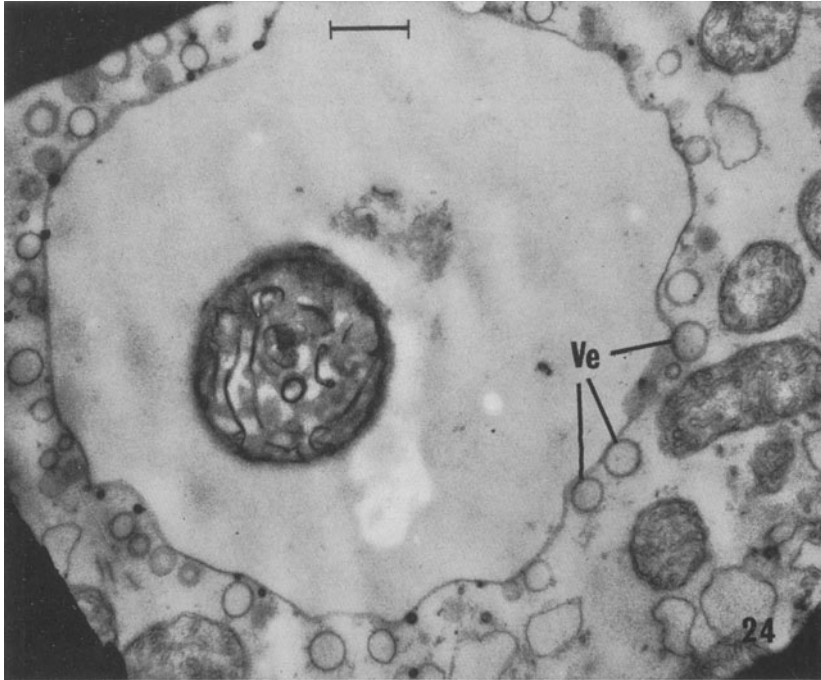


Abb. 12. Verschmelzungsvakuole 1 Std nach Induktion mit NaCl. Kleiner Zentralkörper mit membranösen Residuen. Die Vakuole ist umgeben von kleinen Vesikeln, die sich auch um Nahrungsvakuolen zu scharen pflegen. Vergrößerung: 14 000mal [23]

Wie man sieht, sind alle diese Vermutungen basiert auf der Grundannahme, daß die Membranbarriere zwischen Vakuoleninhalt und Cytoplasma bestehen bleibt. Auch in dem Fall eines vermuteten enzymatischen Membranabbaues wird der Prozeß als intravakuolär angesehen.

Wenn man an dieser Grundannahme festhält, ist man also nicht in der Lage, die Pinocytose als Alternative zu den verschiedenen Prozessen des Transmembran-Transports durch die Zelloberfläche aufzufassen. Eher wäre die Pinocytose als Hilfsmechanismus des Membrantransports zu betrachten, welcher durch die Translokation großer Anteile der Zelloberfläche ins Zellinnere und darauf folgende Membranumwandlungen die Transportprozesse in ein anderes zelluläres Niveau verlegt, aber die entscheidenden physiologischen Merkmale des Membrantrans-

portes unverändert läßt, nämlich vor allem die Selektivität und die energetische Kopplung an den Zellenstoffwechsel. Hierin unterscheidet sich diese Betrachtungsweise wesentlich von der früher erwähnten andern Alternative, welche die einfache Freisetzung des Vakuoleninhaltes durch Membranverdauung oder Membranfragmentierung annimmt.

Welche dieser Annahmen sich auch schließlich als richtig erweisen möge, so existieren jedenfalls Anzeichen dafür, daß die pinocytische Einfuhr von Material ins Zellinnere metabolisch wirkungsvoll sein kann.

CHAPMAN-ANDRESEN und HOLTER [14] haben die metabolische Erfassung pinocytisch zugeführter Glukose an *Chaos chaos* untersucht. Wie schon früher angeführt, ist diese Amöbe für Glukose sehr impermeabel, und Glukose wird, da sie kein Pinocytoseinduktor ist, normal auch nicht pinocytisch aufgenommen. Bietet man aber Glukose zusammen mit einem induzierenden Protein, so geht, wie früher beschrieben, eine gewisse Menge davon zusammen mit dem Protein in die Pinocytosevakuolen ein. Mit Hilfe einer autoradiographischen Methode untersuchten CHAPMAN-ANDRESEN und HOLTER die intrazelluläre Lokalisation so dargebotener, mit ^{14}C markierter Glukose. Sie fanden, daß die Radioaktivität schon sehr bald nach der Pinocytose auch außerhalb der Vakuolen im Cytoplasma nachgewiesen werden kann. In Respirationsversuchen im Cartesianischen Taucher wurde die Menge von ausgeschiedenem $^{14}\text{CO}_2$ gemessen, und es wurde festgestellt, daß die Amöbe imstande war, die Glukose ungefähr gleichzeitig mit dem Auftreten im Cytoplasma metabolisch zu erfassen. Hieraus wurde geschlossen, daß die Vakuolenmembran im Endoplasma in der Richtung erhöhter Glukosepermeabilität verändert worden sein mußte.

In Anbetracht unseres heutigen Wissens über Mikropinocytose und Digitation ist diese Annahme nicht mehr einwandfrei. Erstens würde eine Glukosedistribution in vielen mikropinocytischen Vesikeln autoradiographisch von einer echten diffusen Verteilung im Cytoplasma nicht unterscheidbar sein, und zweitens macht, wie von РОТН [43] angeführt, die Oberflächenvergrößerung die Annahme spezifischer Permeabilitätsveränderungen überflüssig. Außerdem ist zu bedenken, daß die Glukose, selbst wenn sie zweifellos in den glykolytischen Stoffwechsel eingegangen ist, nicht notwendigerweise die Vakuolenmembran als Glukose passiert hat; es kann dies auch in Form eines Abbauproduktes geschehen sein.

Versuche dieser Art bieten also nur wenig Information in bezug auf den Mechanismus der Membranpassage. Sie zeigen aber eindeutig, daß die Passageverlegung ins Zellinnere die erstaunlich rasche Ausnützung einer Substanz vermittelt, die für die Zelle ursprünglich fast unzugänglich war.

D. Enzymatische Aspekte der Vakuolenverschmelzung

Der im vorigen Abschnitt genannte Fall der Glukoseausnützung wirft die folgende Frage auf: Wenn wir den Verdacht hegen müssen,

daß nicht Glukose selbst, sondern z. B. ein phosphoryliertes Zwischenprodukt tatsächlich die Membran passiert; oder, wenn im Falle von hochmolekulären Stoffen wie Proteinen das Molekül erst teilweise abgebaut werden muß, um passieren zu können – wie kommen diese Abbaureaktionen zustande? Es gibt keine experimentellen Anhaltspunkte dafür, daß die Zellmembran der Amöben mit einer Vielfalt katabolischer Enzyme ausgerüstet sei (nur in wenigen Fällen wird von einer solchen Lokalisation berichtet; vgl. [5]), und dennoch scheint, sobald dieselbe Membran sich im Endoplasma befindet, eine lebhaft enzymatische Wirksamkeit eingeleitet zu werden. Dieses Problem ist natürlich nicht neu; es handelt sich essentiell um die alte Frage, wie die Verdauung des Inhaltes der Nahrungsvakuolen zustandekommt.

Die Antwort auf diese Frage scheint in den Beziehungen zwischen endocytischen Vakuolen und Lysosomen zu liegen. Neuere Untersuchungen der bemerkenswerten morphologischen Variabilität der Lysosomen (vgl. Übersicht von DE DUVE [19]) haben etwa folgenden Sachverhalt ergeben: Die „ursprünglichen“ Lysosomen, dichte strukturlose Körper, welche DE DUVEs [18] ursprünglicher Definition entsprechen (vgl. auch NOVIKOFF [33, 34]), haben die Tendenz mit einer Reihe von anderen cytoplasmatischen Organellen zu verschmelzen. Hierdurch entstehen morphologisch sehr verschiedenartige, „zusammengesetzte“ Inklusionskörper, die jedoch alle die enzymatischen Charakteristika der Lysosomen zeigen und daher unter den erweiterten Lysosomenbegriff einzuordnen sind. Zu den häufigsten Verschmelzungsrecipienten der Lysosomen gehören die Endocytosevakuolen, und man kann daher annehmen, daß sie auf diesem Wege ihre Ausrüstung mit hydrolytischen Enzymen empfangen. Soweit ich weiß, war ROSE [42] der erste, der diese wichtige Rolle der Lysosomen und der Organellenverschmelzung erkannte.

Diese ganze Hypothese führt zu einer Reihe von sehr interessanten Fragestellungen in bezug auf die intrazelluläre Physiologie der Enzyme, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. Nur auf zwei Aspekte sei besonders hingewiesen.

Der eine betrifft den Umstand, daß die Organellenverschmelzung einen Weg anzeigt, auf dem hochmolekulare Substanzen (in diesem Fall Enzyme) unter Umgehung der Membranbarriere von einem Zellort zum andern transportiert werden können. Der Vorgang scheint von großer prinzipieller Bedeutung auch für wichtige Phasen des Exkretionsmechanismus und verdient eingehendes Studium. Soweit ich weiß, nehmen die gangbaren Membranmodelle keine spezielle Rücksicht auf eventuelle Membraneigenschaften, die eine strukturelle Grundlage für die Tatsache der Membranverschmelzung abgeben könnten.

Der andere Hinweis betrifft die Frage, ob die Pinocytose von bestimmten Substanzen, z. B. Proteinen, als spezifischer Stimulus für die Lysosombildung der Zelle wirken kann. In Anbetracht der großen Ansprüche an das lysosomale Enzymsystem, welche die pinocytische Substanzzufuhr darstellen muß, war eine solche Annahme naheliegend, und sie ist von LAGUNOFF [26] experimentell geprüft worden. Die Unter-

suchung wurde an *Chaos chaos* mit Serumalbumin, Natriumchlorid und Alcian Blue als Pinocytoseinduktoren angestellt, und das Ergebnis war, daß in keinem Fall eine markante spezifische Neubildung hydrolytischer Enzyme nachweisbar war. Es scheint also, daß die Amöben mit einem mehr oder weniger konstanten „Vorrat“ lysosomaler Enzyme ihr Auslangen finden, und daß trotz weitgehender lokaler Um disponierung durch Organellenverschmelzung die totale vorhandene Enzymmenge nur langsam durch langfristige Synthese verändert wird.

E. Die Exkretion bei Amöben

Eine ähnliche Sequenz von Vakuolenverschmelzungen kennzeichnet die Bildung jener großen zusammengesetzten Vakuolen, in welchen verschiedene Abfallsprodukte als Vorstufe zur Exkretion aufgesammelt werden. Dieser Vorgang wurde vor vielen Jahren von ANDRESEN und HOLTER [7] beobachtet, und schon damals wurde darauf hingewiesen, daß es sich um eine Verschmelzung nicht nur von verschiedenen Vakuolentypen, sondern auch von Vakuolen und nichtvakuolisierten Organellen handle. Die so gebildeten Mischvakuolen wurden „Defäkationsvakuolen“ genannt.

Heute wissen wir, daß die Defäkationsvakuolen aller Wahrscheinlichkeit nach identisch sind mit den „compound lysosomes“ oder „residual bodies“ [19], die nicht nur in Amöben, sondern in einer ganzen Anzahl anderer Zelltypen beschrieben worden sind. Wir wissen auch, daß solche Sammelvakuolen nicht nur durch Verschmelzung entstehen können, sondern auch durch die Bildung von Einschlußmembranen in einem Prozeß, der von HAYWARD [23] „Sequestration“ genannt wurde.

Das endliche Schicksal solcher Vakuolen ist in Amöben ihre Ausstoßung durch den von ANDRESEN und HOLTER [7] beschriebenen Defäkationsvorgang (Abb. 13). Die Vakuole wird durch einen kräftigen Cytoplasmastrom gegen das Plasmalemma geführt, oft an der Spitze eines kleinen Pseudopodiums. Wenn Vakuolenmembran und Plasma-

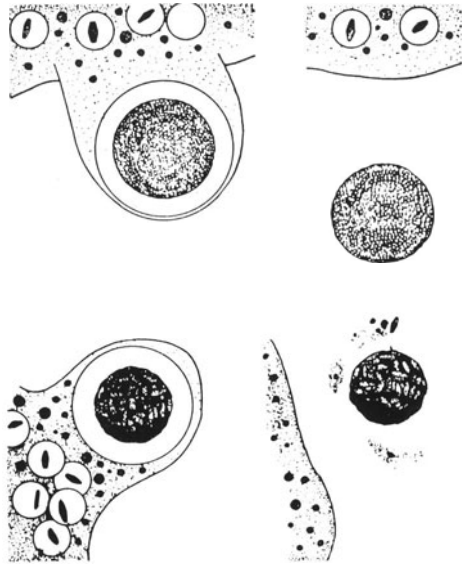


Abb. 13. Zwei Fälle von Defäkation in *Chaos chaos* (schematisch). Links: Die Defäkationsvakuolen liegen in kleinen Pseudopodien. Die obere enthält Nahrungsreste, die untere ein Krystall-Konglomerat, hervorgegangen aus der Verschmelzung von Krystallvakuolen (wie solche an der Basis der Pseudopodien dargestellt sind). Rechts: Der Vakuoleninhalt ist ausgestoßen und liegt frei im Medium [7]

lemma in engen Kontakt gebracht werden, geschieht eine im Lichtmikroskop nicht genau zu beobachtende Verschmelzung, wodurch der Inhalt der Vakuole freigelegt wird, ohne daß gleichzeitig das Cytoplasma gegen das Außenmedium entblößt wird. Vermutlich durch Oberflächenspannung wird der Vakuolengrund sehr rasch auf das Niveau der Zelloberfläche gebracht und der Membranhalt dadurch ausgestoßen.

Oberflächlich gesehen erinnert der Defäkationsvorgang an eine invertierte Invagination, und die Defäkation der Amöben kann sohin wohl als ein infolge seiner verhältnismäßigen Heftigkeit vielleicht etwas spezieller Fall von Exocytose betrachtet werden.

In vielen anderen Zelltypen sind Fälle von „umgekehrter Pinocytose“ beschrieben worden, entweder als postulierter Sekretionsmechanismus hochmolekulärer Zellprodukte, oder als Transportprozeß, bei welchem Substanzen an einer Zelloberfläche durch Pinocytose aufgenommen und auf der Gegenseite durch Exocytose wieder ausgeschieden werden. Die Beschreibung gründet sich in den meisten dieser Fälle auf die statischen Bilder des Elektronenmikroskopes, und man kann daher kaum beurteilen, ob der eigentliche Ausscheidungsvorgang an die rasch und heftig verlaufende Amöbendefäkation erinnert, oder ob es sich um eine echte Invertierung der viel langsamer ablaufenden Invagination und Vesikulation handelt.

Literatur

- [1] ANDRESEN, N., and H. HOLTER: C. R. Carlsberg, Ser. chim. **25**, 107 (1945).
- [2] BAIRATI, A., and F. E. LEHMANN: Exp. Cell Res. **5**, 220 (1953).
- [3] BELL, L. G. E.: J. theoret. Biol. **3**, 132 (1962).
- [4] BENNETT, H. S.: J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl. 99 (1956).
- [5] BIRNS, M.: Exp. Cell Res. **20**, 202 (1960).
- [6] BRANDT, P. W.: Exp. Cell Res. **15**, 300 (1958).
- [7] —, and G. D. PAPPAS: J. biophys. biochem. Cytol. **8**, 675 (1960).
- [8] — — J. cell. Biol. **15**, 55 (1962).
- [9] BRATIANU, S., et A. LLOMBART: C. R. Soc. Biol. (Paris) **101**, 299 (1929).
- [10] CHAPMAN-ANDRESEN, C.: C. R. Carlsberg, Ser. chim. **31**, 77 (1958).
- [11] — Soc. Exptl. Biol. Joint British-Dutch-Scandinavian Meeting, Copenhagen (1959).
- [12] — C. R. Carlsberg **33**, 73 (1962).
- [13] — Progress in Protozoology. Publ. House Czechoslovak Acad. Sci. Eds. Ludvik, Lom und Vavra 1963.
- [14] —, and H. HOLTER: Exp. Cell Res. Suppl. **3**, 52 (1955).
- [15] — — C. R. Carlsberg **34**, 211 (1964).
- [16] —, and J. R. NILSSON: Exp. Cell Res. **19**, 631 (1960).
- [17] —, and D. M. PRESCOTT: C. R. Carlsberg, Ser. chim **30**, 57 (1956).
- [18] DE DUVE, C.: Subcellular Particles. New York: Ronald Press (1959).
- [19] — Ciba Foundation Symposium "Lysosomes", S. 126 u. 411, London: J. A. Churchill Ltd. 1963.
- [20] DE TERRA, N., and R. C. RUSTAD: Exp. Cell Res. **17**, 191 (1959).
- [21] GERARD, P., and R. CORDIER: Biol. Rev. **9**, 110 (1934).
- [22] GOSSELIN, R. E.: J. gen. Physiol. **39**, 625 (1956).
- [23] HAYWARD, A. F.: C. R. Carlsberg **33**, 535 (1963).
- [24] HOLTER, H.: Int. Rev. Cytol. **8**, 481 (1959).
- [25] —, and J. M. MARSHALL JR.: C. R. Carlsberg, Ser. chim. **29**, 7 (1954).
- [26] LAGUNOFF, D.: C. R. Carlsberg **34**, in press.
- [27] LEHMANN, F. E.: Ergebn. Biol. **21**, 88 (1958).
- [28] MAST, S. O., u. W. L. DOYLE: Protoplasma (Wien) **20**, 555 (1934).
- [29] MERCER, E. H.: Proc. roy. Soc. B. **150**, 216 (1959).

- [30] METCHNIKOFF, E.: Biol. Zbl. 3, 560 (1883).
- [31] MÜLLER, M., és G. RAPPAY: Magy. Tud. Akad., Biol. orv. Tud. Osztal. Közl. 3, 81 (1959).
- [32] NACHMIAS, V. T., and J. M. MARSHALL JR.: IUB/IUBS Symposium "Biological structure and function" II, 605 (1962).
- [33] NOVIKOFF, A. B.: Biol. Bull. 119, 287 (1960a).
- [34] — Developing Cell Systems and their Control. New York: Ronald Press (1960b).
- [35] — The Cell II. New York. Acad. Press 1961.
- [36] ODOR, L. D.: J. biophys. biochem. Cytol. 2, Suppl. 105 (1956).
- [37] PALADE, G. E.: J. biophys. biochem. Cytol 2, Suppl. 85 (1956).
- [38] — Ciba Foundation Symposium "Lysosomes", S. 412. London: J. A. Churchill Ltd. 1963.
- [39] PAPPAS, G. D.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 78, 448 (1959).
- [40] POLICARD, A., and M. BESSIS: C. R. Acad. Sci. (Paris) 246, 3194 (1958).
- [41] REICHSTEIN NILSSON, J.: Unveröffentl. Beobachtung.
- [42] ROSE, G. G.: J. biophys. biochem. Cytol. 3, 697 (1957).
- [43] ROTH, L. E.: J. Protozool. 7, 176 (1960).
- [44] SCHNEIDER, L., u. K. E. WOHLFARTH-BOTTERMANN: Protoplasma (Wien) 51, 377 (1959).
- [45] SCHUMAKER, V. N.: Exp. Cell. Res. 15, 314 (1958).
- [46] SPEK, J., u. G. GILLISSEN: Protoplasma (Wien) 37, 259 (1943).
- [47] WITTEKIND, D.: Naturwissenschaften 50, 270 (1963).
- [48] WOHLFARTH-BOTTERMANN, K. E.: Protoplasma (Wien) 52, 58 (1960).
- [49] — Forschungsber. des. Landes Nordrhein-Westfalen, Nr. 1247, Köln: Westdeutscher Verlag 1963.
- [50] WOLPERT, L., and C. H. O'NEILL: Nature (Lond.) 196, 1261 (1962).

Summary

The initial phase of pinocytosis has two steps: 1. adsorption of the substance to be ingested (the pinocytosis-inducer) to the mucoid layer of the plasmalemma; 2. invagination of the loaded membrane, leading to the formation of pinocytosis channels and the detachment of pinocytic vacuoles which contain the adsorbate and fluid medium. Adsorption leads to a selective accumulation of the inducer. The ingested vacuoles, therefore, contain considerable amounts of solid, but relatively little fluid.

Pinocytosis does not continue indefinitely under a prolonged pinocytic stimulus. According to CHAPMAN-ANDRESEN this is due to an exhaustion of surface membrane available for invagination. The limiting value seems to be reached when about 50% of the surface has been internalized.

The pinocytic vacuoles undergo morphological changes which lead to an increase of the vacuolar surface, partly by digitation, partly by the detachment of secondary "micropinocytic" vesicles. These processes seem to be accompanied by a permeation of vacuolar contents into the groundplasm.

Pinocytic vacuoles coalesce with each other and with other components of the cytoplasm. Probably the most significant of these processes is the fusion with lysosomes which provides the vacuoles with an equipment of digestive hydrolases. It is not known whether high molecular substances always have to be broken down by such enzymes before they can permeate, or whether there also exists a mechanism for the direct transfer of unchanged large molecules. On the basis of present evidence it seems most probable that a membrane barrier is retained throughout the intracellular cycle. If this is assumed one is led to regard pinocytosis as being a form of transport not essentially different from the transport mechanisms of the cell surface, but rather as an auxiliary transferring surface processes to internalized membrane areas.

The final fate of pinocytic vacuoles seems to be excretion. Indigestible remnants of pinocytically ingested substances are observed as components of compound debris vacuoles. They must be assumed to have entered such vacuoles by means of vacuolar fusion, and are expelled from the cell by defaecation.

Diskussion

Wohlfarth-Bottermann: Ich danke Herrn HOLTER für seinen Vortrag, der uns den letzten Stand der Kenntnis über die Pinocytose vermittelt hat.

Ich darf vielleicht gleich auf Ihre Frage antworten, ob sich die Residualpinocytose auch morphologisch von der induzierten Pinocytose unterscheidet. Mit der Einschränkung, daß wir nicht die großen Amöben untersucht haben, sondern Amöben vom *Limax*-Typ, kann man das eigentlich bejahen; denn wir haben immer wirklich runde, abgeschnürte Blasen gesehen und nie diese typischen Pinocytoseblasen mit den zusammengedrückten Membranen, wie Sie sie gezeigt haben. Wie es bei den großen Amöben ist, können wir leider nicht sagen, weil die noch immer die nichtbewältigte Schwierigkeit der Fixation bieten.

Staubesand: Erlauben Sie mir, daß ich meinem eigenen Referat schon den ersten Teil in der Diskussion vorwegnehme; denn Ihre Frage nach Unterschieden zwischen der induzierten Pinocytose und der Residualpinocytose berührt sehr stark die Dinge, über die ich hier zu sprechen die Absicht hatte. DE DUVE hat ja den Vorschlag gemacht, alle Begriffe wie Phagozytose, Pinocytose, Mikropinocytose zusammenzufassen. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß ein wesentliches Merkmal, nämlich die Vereinnahmung von Oberflächenmembran in das Innere der Zelle, bei allen diesen Prozessen vorhanden ist. Wir glauben aber doch, daß zwischen der Pinocytose und der Mikropinocytose, d. h. der Pinocytose elektronenmikroskopischer Dimensionen, Differenzen bestehen, und zwar nicht nur morphologische Differenzen, sondern auch physiologische. Dazu darf ich drei Hauptpunkte nennen:

1. Zur Pinocytose lichtmikroskopischer Dimension sind erfahrungsgemäß in erster Linie freie Zellen, Zellen mit der Fähigkeit zur Pseudopodienbildung, befähigt.

2. Wenn man die Pinocytose dadurch aktiviert, daß man Zellen — wir haben mit Leukozyten gearbeitet¹ — in hochprozentige Eiweißlösungen bringt, dann wird die lichtmikroskopische Pinocytose aktiviert, nicht jedoch die Mikropinocytose.

3. Eines der wesentlichen morphologischen Merkmale der lichtmikroskopischen Pinocytose ist, daß sich unter Vermittlung von Pseudopodien am Rande der Zellen Vakuolen ausbilden, die nach und nach in das Zellzentrum wandern und sich dabei konzentrieren — oder sagen wir: die sich verändern — während die mikropinocytotischen Vesikel praktisch keinerlei Veränderung ihres Inhalts aufweisen.

Zwischen der lichtmikroskopischen Pinocytose und der Mikropinocytose bestehen sicherlich funktionelle Wechselbeziehungen. Sie haben Untersuchungen erwähnt, die zeigen, daß sich von den lichtmikroskopischen entstandenen Vakuolen Sekundärvesikel abschnüren. Das ist aber unseres Wissens bislang nur an Amöben beobachtet worden. Wir haben dasselbe jetzt auch bei menschlichen Leukozyten beobachtet.

Holter: Im wesentlichen sind wir ganz einig. Es ist sehr erfreulich, daß diese Phänomene, die wir bislang nur bei Amöben gefunden haben, jetzt von Ihnen auch bei Leukozyten gefunden wurden. Was die Eindickung betrifft, so können wir Ihnen umgekehrt mitteilen, daß wir das auch wiederum bei Amöben gefunden haben. MARSHALL und ich haben schon vor zehn Jahren durch Zentrifugierungsversuche in verschiedenen Stadien nach der Pinocytose nachgewiesen, daß die Pinocytosevakuolen immer schwerer werden. Daraus haben wir geschlossen, daß in den Pinocytosevakuolen der Amöben eine Eindickung vor sich geht.

Die Abschnürung der mikropinocytotischen Vesikel von der Hauptvakuole macht mir großes Kopfzerbrechen. Sie ist ohne jeden Zweifel da. Es erhebt sich wieder die Frage nach der Spezifität. Wenn man nämlich annimmt, wie MARSHALL es tut, daß die mikropinocytotischen Vesikel die seien, die den erwähnten Ionenaustausch, also den aktiven Transport, in der Amöbe besorgen, dann haben wir wiederum die Frage: Wie geschieht eigentlich die Abscheidung zwischen dem Gesamthalt der lichtmikroskopischen Großvakuole von dem Inhalt der mikropinocytotischen Vesikel? Wir haben, wenn sich das mikropinocytotische Vesikel aus der großen Vakuole durch eine neue Invagination bildet, keinen Mechanismus,

¹ J. STAUBESAND und D. WITTEKIND: Dtsch. med. Forsch. 2, 203 (1964).

der uns einen Teil des Vakuoleninhalts hier zurückhält und nur einen Teil — nämlich den Teil, der nachher für den aktiven Transport in Betracht kommt — in das mikropinocytotische Vesikel aufnimmt.

Darüber wissen wir noch gar nichts. Daß das Phänomen auftritt, ist ohne jeden Zweifel. Nach allem, was wir heute wissen, dürfen wir annehmen, daß die Pinocytose, die zur Bildung von lichtmikroskopisch nachweisbaren Vesikeln führt, im wesentlichen eine Stoffzufuhr darstellt. Die Probleme, die wir dann zu behandeln haben, sind in dieser großen Vakuole im wesentlichen dieselben wie bei der Phagocytose: Enzymzufuhr, Verdauung und die Fragen, ob die Verdauungsprodukte durch die Vakuolenmembran herausdiffundieren oder ob die Diffusion erleichtert wird durch die Oberflächenvergrößerung oder durch die Bildung mikropinocytotischer Vesikel.

Gersch: Kann man nicht an einem anderen Beispiel als Modell diese Unterscheidung zwischen der induzierten Pinocytose und der Residualpinocytose studieren? Ich denke an die Bildung der Nahrungsvakuole von Paramecium, bei der man auf der einen Seite durch stoffliche Gaben eine Vakuole induzieren kann, aber in der gleichen Weise auch durch reine Flüssigkeit, beispielsweise durch Indikatoren. Meine Frage ist, ob man von dieser Seite im Mechanismus der Bildung der Vakuolen elektronenmikroskopisch evtl. Unterschiede oder Gleichheiten feststellen könnte, um den Mechanismus bei einem bestimmten induktionsfähigen Vorgang genauer zu studieren.

Schneider: Mir ist nicht bekannt, daß Paramecium Nahrungsvakuolen nur in reinen Flüssigkeiten, d. h. ohne Induktionsreiz bildet. Es muß anscheinend ein — mechanischer oder chemischer — Reiz vorliegen. Dabei ist es gleichgültig, ob die induzierenden Partikel hinterher verdaubar sind; es können z. B. auch Latex-Kügelchen sein. Bei den Farbstoffversuchen, die Sie erwähnten, besteht ja die Möglichkeit, daß sie entweder einen chemischen Reiz darstellen oder auch einen mechanischen, wenn sie kolloidal gelöst sind.

Duspiva: Die im Süßwasser lebenden Protisten lassen sich im allgemeinen schwer mit irgendwelchen Tracern markieren, wenn man Tritium-Thymidin oder etwas ähnliches in die Tiere hineinbringen will. Mit der Zeit gehen diese Tracerstoffe doch in die Zelle ein. Es ist die Frage, ob sie nicht auch über einen Pinocytosemechanismus in die Zelle eingeschleust werden, da die Pellicula so impermeabel ist. Dann könnte man nämlich mit einem zusätzlichen Induktor mehr von dem Tracerstoff in die Zelle hineinbekommen.

Holler: Aus eigenen Erfahrungen kann ich Ihnen nichts darüber sagen, aber mit meinem Kollegen ZEUTHEN, der mit synchronisierten Tetrahymenakulturen arbeitet und sich sehr dafür interessiert, alle möglichen Antimetaboliten in die Tetrahymena hineinzubringen, habe ich diese Frage sehr oft diskutiert. Es ist ohne jeden Zweifel bei Tetrahymena möglich, induktionsartige Reaktionen herbeizuführen. Die Anzahl der Vakuolen in den Tetrahymena erhöht sich sehr bedeutend, wenn man sie in Proteinlösungen setzt. Das ist von CHAPMAN-ANDRESEN gefunden und von SEAMAN bestätigt worden. ZEUTHEN denkt daher daran, diesen Mechanismus als Einschleusungsmechanismus zu benutzen, also durch Zugabe von Protein usw. eine künstliche — nennen wie sie einmal — Endocytose herbeizuführen, um die Antimetaboliten hineinzubringen, für die seine Zellen sonst ganz impermeabel sind. Wie das gehen wird, weiß ich noch nicht. Aber die Frage ist ohne jeden Zweifel aktuell und evtl. auch von pharmakologischem Interesse.

Duspiva: Es gibt einen wunderschönen Film aus dem Pasteur-Institut, der die Acanthamöbe beinhaltet. Das ist eine winzige Amöbe, die Bakterien frißt. Die Bakterien werden am physiologischen Vorderende der Amöbe agglutiniert und an der Amöbenoberfläche bis an das physiologische Hinterende befördert, wo dann erst eine Nahrungsvakuole gebildet wird.

Holler: Wir haben diese Frage diskutiert und sind uns darüber einig geworden, daß in der Acanthamöbe die pinocytotische Tätigkeit anscheinend an das Uroid lokalisiert ist, zum Unterschied von den anderen Frischwasseramöben, wo das über die ganze Oberfläche vor sich zu gehen scheint. Daran anschließend, möchte ich fragen, ob es Anzeichen dafür gibt, daß das Uroid in der Residualpinocytose besonders aktiv wäre?

Wohlfarth-Bottermann: Bei den Limax-Amöben sicher.

Holter: I should like to ask Dr. TOSTESON whether there is anything in the existing membrane models that does account for the possibility of membrane fusion. Membrane fusion obviously plays a very important role indeed in many of these processes, not only in the fusion of vacuoles but also in the pinching off of vacuoles and in the extrusion. I have always regretted very much that in the various membrane models that have been put forward so far, this very important property of membranes has not been taken account of.

Tosteson: Well, I think that most of the existing membrane models are science fiction, but I think there are some observations on the behaviour of so-called liquid crystals of phospholipids in aqueous media that do give reason to believe that such a process could occur with materials of the sort that make up biological membranes.