

# ERGÄNZUNGEN ZUR ZELLBIOLOGIE

Dr. Mihály Kálmán

Dr. Orsolya Kántor

Anatomisches, Histologisches und Embryologisches Institut

Semmelweis Universität

Budapest

2011



# Ergänzungen zum zellbiologischen Kapitel des Welsch Histologie Buches

Vorausgesetzt werden gründliche Kenntnisse aus dem Gymnasium. Nach Bedarf sollte man die besten deutschen Lehrbücher aus dem Gymnasium (ggf. auch Bücher der Physik und Chemie) konsultieren.

## Zum Kapitel 1: Begriffe und Methodik

Vor dem **Einbetten** sollte man das Gewebe richtig orientieren (entsprechend der gewünschten Schnittebene und dem Teil des Gewebes, das geschnitten werden soll). Die eingebettete Gewebeprobe nennt sich Block. Die Nachteile der Paraffineinbettung (lange Einbettungszeit, Wirkung von Ethanol und anderen organischen Lösungsmitteln auf das Gewebe) können durch das Gefrierschneiden vermieden werden. Die Methode ermöglicht z. B. das Färben von Lipiden oder die histopathologische Diagnose bereits während der laufenden Operation.

Gewebetypen, die so hart sind, dass es unmöglich ist, sie zu schneiden (z. B. Knochen, Zahn) muss man durch schleifen so dünn präparieren (100-300  $\mu\text{m}$ ), dass die Gewebsplatten für das Lichtmikroskop durchsichtig werden. Da das Schleifen sehr aufwendig ist, gelten solche Schlitze als Rarität und sind dementsprechend sehr wertvoll. Blut und Knochenmark wird oft als Ausstrich untersucht. Unter besonderen Umständen kann man durch Abhäuten Präparate herstellen (Häutchenpräparate).

Die **Färbemethoden** können folgendermaßen eingeteilt werden:

- progressiv oder regressiv. Beim Letzteren wird der Schnitt zuerst überfärbt und anschliessend wird die überflüssige Farbstoffmenge ausgewaschen (Differenzierung).
- simultan oder sukzessiv: die Farbstoffe werden gleichzeitig oder nacheinander angewendet.
- elektiv oder selektiv: eine bestimmte oder mehrere chemische Verbindungen werden sichtbar gemacht.
- direkt oder indirekt: der Farbstoff wird ohne oder nach Vorbehandlung zum Gewebe gebunden.

- positiv oder negativ: beim Letzteren wird nicht die gewünschte Struktur sondern der Hintergrund gefärbt
- orto- oder metachromatisch: die Färbung entspricht der ursprünglichen Farbe des Farbstoffs oder erscheint in eine andere Farbe
- Impregnationen: nach Durchdringen mit Schwermetallsalzen (Silber, Gold, Chrom) fällt das Metall entlang bestimmten Strukturen aus, die dann schwarz, braun oder gelb erscheinen.

Farbige Strukturen können natürlich ohne Färbung untersucht werden (native Präparate).

Bei histochemischen Reaktionen wird eine chemische Verbindung in ein farbiges, unlösliches Produkt umgewandelt. Von diesen Reaktionen werden Sie die Schiffsche-Reaktion während des Semesters kennen lernen. Färbungen und histochemische Reaktionen kann man nicht immer klar trennen, siehe z. B. Proteinfärbung mit Pikrinsäure. Bei enzymhistochemischen Reaktionen wandelt das zu untersuchende Enzym ein Substrat in ein farbiges, unlösliches Produkt um. Ein Beispiel dafür ist die Cholinestherase-Reaktion. Eine gewisse Aktivität des Enzyms bleibt sogar nach der Fixierung erhalten.

Während der Praktika werden Sie mehrere Färbungen kennen lernen. Die Komponenten und Wirkungsmechanismen der wichtigsten Färbungen müssen Sie wiedergeben können (ohne chemische Formeln müssen Sie das Wesentliche kennen).

**Eindeckeln:** Die Schnitte werden auf Objektträger aufgezogen, mit Eindeckmedium (früher Kanadabalsam, heutzutage DePeX) und Deckglas eingedeckelt. Ohne Eindeckmedium trocknet das Präparat aus, wegen der starken Lichtbrechung der vielen kleinen entstandenen Luftbläschen erscheint das Präparat trüb, weisslich, undurchsichtig. Das Gleiche kann passieren, wenn das Deckgläschen nicht richtig aufsitzt.

## **Besondere lichtmikroskopische Methode**

**Fluoreszent Mikroskopie** und konfokale Laser-Raster Mikroskopie: Entweder wird die spontane, natürliche Fluoreszenz gewisser Strukturen untersucht oder werden fluoreszente Farbstoffe verwendet (meistens bei fluoreszenter Immunohistochemie). Physischer Grund der Fluoreszenz: siehe Biophysik. Bei der konfokalen Mikroskopie werden einzelne (einstellbare) Ebenen im Präparat abgebildet. Das Licht, das aus anderen Ebenen des Präparats stammt (und zur Unschärfe beitragen würde) wird ausgeblendet.

Verwendung von **Immersionsobjektiven:** Der Raum zwischen Präparat und Objektiv wird durch Immersionsöl mit hohem Lichtbrechungsindex ausgefüllt. Dadurch wird das

Auflösungsvermögen verbessert (siehe Physik, Abbe-Formel). Die Methode kann nur bei Objektiven mit höchstem Auflösungsmaß verwendet werden. Diese Objektive (Immersionsobjektive), die ohne Öl sowieso ein unscharfes Bild geben, werden mit einem dünnen schwarzen Ring gekennzeichnet. Die Verwendung von Immersionsöl ist bei anderen Objektiven verboten, da bereits kleine Reste von Öl an normalen Objektiven die Bildqualität sehr verschlechtern.

**Dunkelfeldmikroskopie** (Ultramikroskopie) wird meistens zur Auswertung von radioaktiven In-situ-Hybridisierungs-Reaktionen verwendet. Die UV-Mikroskopie ist eher von historischer Interesse.

**Gefäßauffüllung/Injektionspräparate:** Vor dem Einbetten und Schneiden wird ein geeigneter Farbstoff in die Gefäße des jeweiligen Organ eingespritzt. Danach werden entweder Schnitte oder das Gewebe um die Gefäße mit geeigneten Substanzen durchsichtig gemacht („aufgehellt“). Nach Verwendung der zweiten Methode kann die Gefäßstruktur unter Stereomikroskop in 3D untersucht werden. Durch Einstellung der Kraft des Einspritzens bzw. der Viskosität der Farblösung kann eine selektive Füllung der Arterien, der Venen oder des gesamten Gefäßsystems erreicht werden. Die Verwendung von verschiedenen Farbstoffen bei der Injektion ermöglicht die Separation von arteriellen und venösen Versorgungsgebieten, sowie die Trennung von Versorgungsgebieten verschiedener Gefäße.

**Füllung von Zellen:** Zellen (meistens Neurone) können mit Farbstoffen gefüllt werden. Die Füllung erfolgt mittels einer dünnen Glaskapillare. Die Verzweigung von Zellfortsätzen kann so untersucht werden, das Verzweigungsmuster kann mit speziellen Softwares digital abgebildet (gemappt) werden. Vor der Füllung kann das zelltypische Muster von Aktionspotenzialen („firing pattern“) von lebenden Neuronen abgeleitet werden.

**Serienschnitte:** an benachbarten Schnitten (die einander sehr gleichen) können verschiedene Färbungen durchgeführt werden. Dadurch können Effekte von Behandlungen verglichen werden. 3D Rekonstruktionen von Strukturen werden auch an Serienschnitte durchgeführt.

## Elektronenmikroskopische Histotechnik

**Schneiden:** Da das Einbettungsmedium für Elektronenmikroskopie sehr hart ist (Kunstharze), werden die Schnitte (Semidün- oder Ultradünnschnitte) mit Glas- oder mit Diamantmesser hergestellt.

**Semidünnschnitte:** Da die Durchsuchung von elektronenmikroskopischen Schnitten sehr zeitaufwändig ist, die Glas- und Diamantmesser selbst sehr schmale Schneidekanten haben und um die Gefahr von Rissen und Falten zu minimalisieren, sollten die elektronenmikroskopische Schnitte so klein wie möglich sein. Daher sollte man vorher das zu untersuchende Gebiet sorgfältig auswählen. Deswegen werden aus den eingebetteten Gewebeproben oft zuerst relativ dicke (0,5-1,0  $\mu\text{m}$ ) Schnitte gemacht. Da diese Schnitte immer noch viel dünner sind als die gewöhnliche histologische Präparate (aber wesentlich dicker als die Ultradünnschnitte), werden sie Semidünnschnitte genannt. Sie werden meistens mit Toluidinblau gefärbt. Nach Durchsuchung der Semidünnschnitte wählt man das Gebiet des Blockes aus, aus dem anschliessend Ultradünnschnitte gemacht werden sollen, der Rest des Blockes wird abgetrimmt.

## Besondere Methode

**Ergänzung zur Gefrierbruchmethode:** der Abdruck von Präparat wird Replika genannt.

Histochemische, enzymhistochemische, immunhistochemische Reaktionen können für Elektronenmikroskopie adaptiert werden. Vorausgesetzt, dass das Endprodukt der Reaktion genügend elektronendens ist (enthält meistens Schwermetalle).

Serienschnitte und 3D Rekonstruktionen finden in der Elektronenmikroskopie auch ihre Verwendung. Mit Rasterelektronenmikroskopie können z. B. auch feine Gefäßverzweigungsmuster anhand von Korrosionspräparaten untersucht werden.

**Elektronenmikroskopische Röntgen-Mikroanalyse:** Bei dem Elektronenbombardement von der Probe entsteht immer auch eine Röntgenstrahlung. Diese Strahlung ist teilweise eine Bremsstrahlung von konstanter Wellenlänge (wie bei diagnostischen Röntgengeräten) oder eine charakteristische Strahlung (siehe Bücher der Biophysik), deren Wellenlänge-Spektrum von der elementaren Zusammensetzung der Probe abhängt.

Kristallisierte Strukturen können auch mittels Elektronendiffraktion im Elektronenmikroskop untersucht werden.

**Zellfraktionierung:** Das Studium von Zusammensetzung bzw. Funktionsanalyse von Zellorganellen wird erleichtert, wenn man das jeweilige Organell angereichert und von anderen Organellen abgetrennt aus der Zelle isolieren kann. Vor Zellfraktionierung müssen die Zellen (Gewebsstücke, Organe) zuerst homogenisiert werden. Dazu dient der sog. Homogenisator (manuell oder motorisiert). Das Homogenat wird zentrifugiert und die Zellorganellen werden (wegen ihrer verschiedenen Sedimentationsverhalten) voneinander getrennt. Die Sedimentation (Absetzen von Teilchen) wird von der Dichte, Form, Oberflächengröße des Teilchens sowie von

der Viskosität und Widerstand des Mediums beeinflusst. Die vier „klassische“ Zellfraktionen sind: Zellkern-Fraktion, mitochondrielle Mischfraktion (außer Mitochondrien enthält noch andere Organelle), Mikrosomen-Fraktion (kleine Membranvesikel aus der Fragmentierung von Endomembransystemen) und das Zytosol. Die letzte zwei Fraktionen können nur nach Ultrazentrifugation gewonnen werden.

## Immunhistochemie, Immunzytochemie

**Epitope** sind solche Teile der Moleküle, an denen sich die Antikörper direkt binden. Antikörper, die gegen das gleiche Molekül gebildet worden, binden sich nicht unbedingt an das gleiche Epitop.

### Elektronenmikroskopische Immunhistochemie

- Preembedding Immunhistochemie: die Reaktion wird vor dem Einbetten und vor dem Ultradünnschneiden durchgeführt, z. B. mit der Peroxydase-Methode.
- Postembedding Immunhistochemie: die Immunreaktion wird an Ultradünnschnitten durchgeführt z. B. mit der Immunogold-Methode. Dafür werden kolloidale Goldkörner an sekundäre Antikörper gekoppelt. Die Goldkörner sind am Elektronenmikroskop wegen des hohen Molekulargewichts des Goldes gut sichtbar. Diese Technik führt zu schönerem Ergebnis, ist aber teurer und aufwändiger als die Peroxidase Methode.

**Kreuzreaktion** und andere falsch positive Ergebnisse:

Wenn der Antikörper sich an solchen Epitopen bindet, die in anderen Molekülen auch vorkommen, werden auch diese Moleküle zur Positivität der Reaktion beitragen. Dieses Szenario tritt bei Proteinen mit ähnlicher Struktur oft auf.

Nicht-spezifische Bindung kann auch in solchen Fällen vorkommen, bei denen der Antikörper sich nicht ans Epitop, sondern anderswo gebunden wird. Endogene Moleküle (wie endogene Peroxydase, Cytochromoxydase, Hämoglobin) können zur falsch positiven Peroxydase-Reaktion führen. Ebenfalls falsch Positivität kann beispielsweise wegen Autofluoreszenz auftreten. Solche Moleküle, die zu falsch positiven Ergebnissen führen können, sollten geblockt werden. Auch negative Kontrollreaktionen (wie z. B. Weglassen des primären Antikörpers) sollten in ein Experiment eingeplant werden. Wenn die Färbung auch in den negativen Kontrollreaktionen sichtbar ist, kann man sie als unspezifisch betrachten.

**Maskierung, Demaskierung:** In manchen Fällen ist das Epitop für den primären Antikörper unerreichbar (maskiert): die Konformation des Epitops ist verändert oder das Epitop ist verdeckt. Durch verschiedene Behandlungen (enzymatische Verdauung, Detergent, Einfrieren, Mikrowellenbehandlung u. s. w.) kann das Epitop wieder demaskiert werden. Zur Untersuchung intrazellulären Substanzen werden solche Methoden routinemäßig verwendet. (Ähnliche „Demaskierung“ läuft auch in unserem Körper, durch Antigen präsentierende Zellen während der Immunantwort ab. Siehe Bücher der Immunologie.)

#### Produktion von Antikörpern:

- Produktion von polyklonalen Antikörpern: ein Spendetier (meistens Kaninchen oder Ziege) wird mit einem Antigen immunisiert (gespritzt). Das Tier bildet verschiedene Antikörper gegen das Antigen, die sich aus dem Serum relativ rein und konzentriert isolieren lassen (Antiserum). Mehrere verschiedene Antikörper werden gegen mehrere verschiedene Epitops des Antigens in verschiedenen Lymphozytenklonen des Spendetiers gebildet, das Antiserum (mit den verschiedenen Antikörpern) ist daher polyklonal. (Als Klon werden hier die Gesamtnachkommen aus einer einzigen Lymphozyt bezeichnet.)
- Produktion von monoklonalen Antikörpern: Dafür werden B-Lymphozyten aus der Milz eines immunisierten Tieres entnommen. Die Zellen werden mit Tumorzellen (Myeloma) verschmolzen, dadurch entstehen verschiedene Hybridoma Zellen (Hybride), die quasi unsterblich sind und Antikörper produzieren (ein Zellklon bildet einen bestimmten Antikörper). Von den Klonen wird derjenige „herausgefischt“, der gegen das selbe Antigen gebildet wurde, mit dem das Tier immunisiert wurde. Monoklonale Antikörper sind spezifischer als polyklonale, kommen aber pseudo-negative Reaktionen öfter vor.

**Doppel- oder Mehrfachmarkierungen:** Wenn gleichzeitig zwei oder mehrere Substanzen im gleichen Schnitt nachgewiesen werden sollten (um z. B. nachzuweisen, dass die zwei Substanzen in der selben Zelle/in benachbarten Zellen vorkommen), sollte man primäre Antikörper aus verschiedenen Spezies auswählen. Um die Reaktionen auseinanderhalten zu können, sollen die Endprodukte der Reaktionen natürlich in anderen Farben erscheinen.

Zum Nachweis von Kolo-kalisationen (Vorkommen von mehreren Substanzen in der selben Zelle) ist die Fluoreszenzmarkierung die Methode der Wahl. Wenn z. B. die eine Reaktion rot, die andere grün markiert ist, erscheinen Stellen, wo beide Substanzen vorkommen, gelb. Zur Untersuchung fluoreszenter Präparate wird immer öfter das **konfokale Laser-Raster Mikroskop**

verwendet. Beim konfokalen Mikroskop wird gleichzeitig nur eine optische Ebene abgebildet. Dadurch kann man vermeiden, daß fluoreszent Signale aus verschiedenen Schnittebenen aufeinander projiziert werden (und so die Illusion von Kolo-kalisation/Berührung erwecken).

### ***In situ* Hybridisierung**

Messenger RNS oder chromosomale DNS (die ein bestimmtes Protein kodieren) werden mit der Methode nachgewiesen. Das Prinzip der Reaktion ist die Bindung von einem exogenen, komplementären Probe (RNS oder DNS Stücke) an die endogenen, zellulären Nukleinsäuren. „*In situ*“ bedeutet, dass diese Bindung im histologischen Schnitt stattfindet, man kann also die spezifische Nukleinsäure in Zell/Gewebe-kontext lokalisieren.

Als Proben dienen einsträngige Stücke aus RNS oder DNS. Die meistens kurze (20-40 Basenpaar) DNS Proben können synthetisiert werden, RNS Proben (400-800 Basenpaar) werden oft mittels *in vitro* Transkription hergestellt. Als Templat-DNS für RNS Proben dient ein entsprechend großes Stück cDNS des zu untersuchenden Gens. Die cDNS wird in einen Vektor kloniert und mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) vervielfacht. (cDNS wird aus mRNA mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase synthetisiert, also entspricht den Teilen des Gens, die in mRNA umgesetzt werden.) Die Basensequenzen der Gene sind in Datenbanken erreichbar, der Sequenz des komplementären Stranges kann also ermittelt werden.

### **Autoradiographie**

Erlaubt die Lokalisierung von radioaktiv markierten Substanzen (Nukleinsäuren, Proteine) auf bestimmte Zellen (lichtmikroskopische Autoradiographie) oder auf der subzellulären Ebene (elektronenmikroskopische Autoradiographie). Das Prinzip: die Bausteine der zu untersuchenden Substanz werden mit einem radioaktiven Isotop (meistens mit schwachen  $\beta$ -Strahlern, wie  $^3\text{H}$ =Tritium,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{P}$ ) markiert. Solche Bausteine werden wie die „normalen“, nicht strahlenden Varianten in die Zellen aufgenommen und dort verwendet (eingebaut). Nach passender Zeit wird das Gewebe fixiert, eingebettet, geschnitten (bis 10  $\mu\text{m}$  für Lichtmikroskopie, 100 nm für Elektronenmikroskopie). Die Schnitte werden mit einer Photoemulsionschicht (meistens Silberbromid) überzogen. Die  $\beta$ -Strahlung entweicht in alle Raumrichtungen, ein Teil der Strahlung trifft auf die Photoemulsion. Durch die Strahlung werden die Silberionen der Emulsion reduziert (metallisches Silber), was (nach Photoentwicklung) zu einer lokalen Schwärzung der

Emulsion führt. Da die Strahlung die Probe in zufälliger Richtung verläßt, liegt das Signal (Silberkorn) nicht unbedingt ganz genau über der markierten Struktur, die Zuordnung ist nur im Bereich 100-200 nm möglich (kein Problem bei Lichtmikroskopie, aber nicht sehr genau auf elektronenmikroskopischem Niveau). Autoradiographie wird heutzutage meistens als Visualisation von radioaktiver in situ Hybridisation verwendet.

## Zum Kapitel 2 „Zelle“

### Zur Seite 13: „Prokaryotische Zellen“

Es ist wichtig, daß Bakterien über DNS aber nicht über Kernmembran verfügen.

**Zellwand:** Ausreichend ist zu merken, daß Bakterien, Pilze und pflanzliche Zellen eine Zellwand besitzen.

### Zur Seite 15 „Eukaryotische Zellen“

Eukaryoten sind nicht nur Pflanzen, Pilze, und Tiere sondern auch Protozoen (Prokaryoten sind unter anderen Bakterien und Blaualgen).

Wichtige Unterschiede zwischen Pro- und Eukaryoten:

- Eukaryoten besitzen einen echten, membranumhüllten Zellkern, die DNS ist zu Proteinen assoziiert (Chromatin), Prokaryoten haben ein ringförmiges, „nacktes“ DNA Molekül, das frei im Zytoplasma vorliegt.
- Für die Regulation der Transkription und Translation besitzt die eukaryotische Zelle mehrere Mechanismen, in Prokaryoten stehen für Genregulation nur das Operon-Systeme zur Verfügung (siehe Bücher der Biochemie).

Verschiedene Prozesse spielen in Eukaryoten oft in Kompartimenten (membranumhüllten Organellen) ab. In den Organellen kommen Moleküle in höherer Konzentration (und oft in membrangebundener Form) als in der Umgebung vor.

Faktoren, die die Form der Zelle bestimmen:

- Oberflächenspannung: suspendierte oder an Nachbarn nur schwach gebundene Zellen sind annähernd kugelig.
- Lage zur Umgebung: Zellen, die von vielen Nachbarzellen umgeben sind, sind polygonal, Zellen, die an der freien Oberfläche liegen sind flach,
- Zytoskeleton (Mikrofilamente –meistens Aktin-, Mikrotubuli, intermediäre Filamente, siehe später): Zilien, Mikrovilli, Pseudopodien.

Bei eher kleineren Zellen folgt die Form des Zellkerns der Zellform, bei großen Zellen ist der Zellkern annähernd kugelig. Weitere, bizarre, eingeschnürte oder gelappte Zellkernformen können auch vorkommen, da der Zellkern über ein eigenes „Gerüst“ verfügt (Nukleoskeletton, siehe weiter unten).

### **Zur Seite 17, „Asymmetrie“**

Der Mechanismus, mit dem die Lipide aus der inneren in die äußere Schicht der Membran gelangen, nennt sich Flip-Flop und wird von der sog. Flippase katalysiert. Das ist auch deswegen notwendig, da die neuen Lipide zur inneren Schicht addiert werden.

### **Zur Seite 19 „Membranfluss“**

Membrane von Zellorganellen sowie Zellbereichen (apikales-basales Kompartiment) sind besonders in Protein-, aber auch in Lipidenzusammensetzung unterschiedlich. Wegen der Fluidität der Membran können sich die Moleküle innerhalb der Membran durch laterale Diffusion bewegen. Das Vermischen der Membrankomponente zwischen den apikalen und basalen Membrankompartimenten wird durch tight junctions (siehe Seite 31) gehemmt. Die laterale Diffusion geschieht manchmal in größeren, zusammengefaßten Molekülegruppen, in sogenannten Lipid „rafts“ (engl.: Floß), die wie Flöße schwimmen.

### **Zur Seite 18 „Lipiddoppelschicht“**

Zum Verständnis des Membranaufbaus siehe auch Zellmembranmodell auf S. 181.

### **Zur Seite 19 „Transporter“**

Ein wichtiger Unterschied zwischen Carrierproteine und Kanäle ist, daß die Carrierproteine sich zusammen mit dem zu transportierenden Molekül bewegen, mit ihm in stöchiometrischer Relation stehen. Beide Proteinarten sind selektiv und deren Funktion kann gehemmt werden. Bei Membranerneuerung ändert sich die Anzahl der Carrierproteine/Kanäle (sowie die Anzahl von Rezeptoren, Zelladhäsionsmoleküle). Die Zusammensetzung der Membranproteine wird geregelt, dabei spielt Exo- und Endocytose eine wichtige Rolle.

### **Zur Seite 19 „Transporter sowie Membranpumpen“**

Einerseits die selektive Permeabilität der Zellmembran, andererseits der aktiver Transport durch die Zellmembran führt zur ungleicher Ionenverteilung an beiden Seiten der Membran (intra- und extrazellulär). Die intrazelluläre Konzentration von  $K^+$  und  $Mg^{2+}$  ist höher als die extrazelluläre. Umgekehrt ist der Fall bei  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  und  $Cl^-$ : ihre Konzentration ist im extrazellulären Raum höher. Schnelle Änderungen in Permeabilität und Konzentration von Ionen ( $Na^+$  Einstrom,  $K^+$  Ausstrom) liegen dem Aktionspotential, Sekretion und Muskelkontraktion

(Ca<sup>2+</sup>) zugrunde. Die Gesamtkonzentration (molare Konzentration) von gelösten Molekülen ist an beiden Seiten der Zellmembran gleich (isosmotisches Verhältnis). Wenn die Zelle in eine konzentriertere (hyperosmotische) Umgebung kommt, schrumpft sie (Wasserverlust), in umgekehrtem Fall (hyposmotische Umgebung) nimmt die Zelle Wasser auf und kann sogar platzen. Detaillierte Beschreibung der Osmose siehe Physik. Der extrazelluläre pH Wert beträgt 7,4, der intrazelluläre Wert ist niedriger. Zwischen den beiden Seiten der Zellmembran kann man 90 mV Spannung messen, die Innenseite ist negativer, das Membranpotential beträgt also -90 mV. Auf die Ionenbewegungen wirkt zu einem die Ladungsdifferenz zwischen den beiden Seiten der Membran (Strömen von Kationen nach innen ist erleichtert) zum anderen der Konzentrationsgradient. Beide zusammen ergeben ein elektrochemisches Potenzial.

ABC (ATP Binding Cassette)-Systeme gehören zu den besonderen Transportersystemen. Mit ihrer Hilfe (diese sind eigentlich modifizierte Flippasen) werden einerseits lipophile Substanzen aus dem Zytosol entfernt, andererseits können bestimmte, an freien Ribosomen synthetisierte Proteine (sie umfahren dadurch den Golgi-Apparat) aus der Zelle geschleust werden.

#### **Zur Seite 19 „Zelladhäsionsmoleküle“**

Es lohnt sich hier zu erwähnen, daß Zellkontakte gleichzeitig als Signale dienen, Zelladhäsionsmoleküle stehen mit dem Signaltransduktionsapparat (sowie mit dem Zytoskelett) in Verbindung.

#### **Zur Seite 22 „Mikrovilli“**

Mikrovilli sind Ausstülpungen der apikalen Plasmamembran, sie enthalten ein Bündel aus 20-30 Aktinfilamenten. Die Aktinfilamente sind mit ihren Plus Enden zur Spitze der Mikrovillus verankert.

**Filopodien:** Dünne, fingerförmige Ausstülpungen des Zytoplasmas nennt man Filopodien. Netzartige Ausstülpungen werden als Krause (ruffle), platte Ausstülpungen als Lamellipodien bezeichnet. Sie spielen bei Zellwanderungen, bzw. bei Axonenwachstum eine wichtige Rolle.

#### **Zur Seite 25 „Zellverbindungen“**

Homophile Verbindung: entsteht zwischen gleichen Molekülen, heterophile Verbindung: unterschiedliche Moleküle werden verbunden. Zell-Zellerkennung erfolgt meistens durch homophile Verbindungen. Homophile Bindungen spielen bei Entstehung von Geweben, Gehirnerne eine Rolle. Heterophile Bindungen beteiligen sich an Entstehung von Geweben, Zell-Lamina basalis-Verbindungen.

Unter CAM (cell adhesion molecule) versteht man einerseits alle Zelladhäsionsmoleküle (auch Cadherine, Ca-adherine, also  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Adherine). CAMs im engeren Sinn werden z. B. E-CAM, N-CAM, also Moleküle aus der Immunglobulin-Superfamilie bezeichnet. Jede Zellverbindung (zu Zellen oder zu der extrazellulärer Matrix) dient als Signal für die Zelle, Zellverbindungen sind mit den Signaltransduktionssystemen verkoppelt.

Zellverbindungen, vor allem solche mit hauptsächlich mechanischen Funktionen, sind mit dem Zytoskelett verbunden.

Moleküle, die am Aufbau von mechanischen Zellkopplungsstrukturen beteiligt sind (Cadherine bei Zell-Zell-, Integrine bei Zell-Matrix-Verbindungen), können entweder diffus vorkommen oder sie können zu elektronenmikroskopisch nachweisbaren Strukturen gruppiert vorliegen. Moleküle der tight und gap junctions sind immer zur solchen Strukturen organisiert. Andere Moleküle wiederum, wie z. B. Zelladhäsionsmoleküle aus der Immunglobulin-Superfamilie oder Selektine sind nicht zu sichtbaren Strukturen angeordnet.

#### **Zur Seite 27:**

Die Tabelle zeigt die wichtigsten Zusammenhänge:

intermediär Filament	Aktin	Zelle bindet sich an:
Desmosom	Adhärenskontakt	Zelle (Cadherine)
Hemidesmosom	fokale Kontakt	Bindegewebe (Integrin)

Adhärenskontakt: je nach Form: Zonula adherens (gürtelförmig um die Zelle), Fascia adherens (bandförmig), Punctum adherens (punktförmig).

#### **Zur Seite 30 „Kommunikationskontakt“**

Anfangs wurden Gap junctions für strenge homophile Verbindungen gehalten, Connexine (benannt nach dem Molekulargewicht) wurden für zelltypisch gehalten. Vor kurzem wurden aber auch heterophile (zwischen verschiedener Connexonen), sogar heteromere Verbindungen (verschiedene Connexine in einem Connexon) entdeckt.

Zwischen Zellen und Bindegewebe kommen auch Connexon-ähnliche Halbkanäle, bestehend aus Pannexine, vor. Die Rolle der Pannexine ist noch wenig geklärt, sie beteiligen sich eigentlich in Zell-Matrix Verbindungen.

#### **Zur Seite 33 „Kernhülle“**

Zur Kernplasma gekehrte Seite der inneren Kernmembran ist ein Netzwerk aus intermediären Filamenten assoziiert. Dies ist die Kernlamina oder Lamina fibrosa. Mit Elektronenmikroskop erscheint die Kernlamina als eine 30-100 nm dicke, elektronendense Schicht und bildet einen Teil des Kerngerüsts. Die Kernlamina spielt eine wichtige Rolle bei der

Aufrechterhaltung und Stabilität der Kernporen sowie bei der intranukleären Organisation des Chromatinbestands. Ein Teil des Heterochromatins (perinukleäres Heterochromatin) ist zur Kernlamina verankert. Das perinukleäres Heterochromatin ist als Zellkernumrandung im Lichtmikroskop sichtbar.

Drei Arten von Lamin: A, B, C sind bekannt. Bei der Zellteilung ist die Phosphorylierung der Lamine für den Zerfall des Kernmembran-Kernlamina-Chromatin Komplexes verantwortlich. Am Ende der Zellteilung werden Lamine dephosphoryliert, die ursprüngliche Struktur wird wieder aufgebaut (siehe auch S 58).

#### **Zur Seite 34 „Kernporen“**

Bei Kernporen entstehen ein großer, zentraler und 8 kleinere, periphere Kanäle. Kernporen hemmen gleichzeitig die laterale Diffusion der Membrankomponente zwischen inneren und äußeren Membranschichten.

#### **Zur Seite 35 „Chromatin“**

In Zellen, die sich gerade nicht teilen, befinden sich die Chromosomen als Interphasechromosom. Dichter verpackte Regionen der Chromosomen liegen peripher im Zellkern, locker verpackte Regionen liegen dagegen eher zentral. Ein Teil des peripheren Chromatins ist an der Kernlamina verankert. Der Teil des Chromatins, der in Zellkerninnere hineintragt (und dort im Verhältnis zu seiner Länge in relativ kleinem Raum lokalisiert ist) ist zu fibrillären Strukturen der Kernmatrix befestigt. Diese Tatsache untermauert die Vermutung, daß alle Chromosomen (46 im menschlichen Körper) einen bestimmten Platz im Zellkern belegen (Territorium des Chromosoms).

#### **Zur Seite 35 „Nicht-Histon-Proteine“**

Kennen des Begriffs ist ausreichend.

#### **Zur Seite 35 „Eu- und Heterochromatin“**

Es wird zwischen konstitutiven (wird nie transkribiert) und fakultativen Heterochromatin (kann transkribiert werden) unterschieden. Fakultatives Heterochromatin ist an der Kernmembran angeheftet, dadurch wird die Kernmembran im Lichtmikroskop sichtbar. Das perinukleäre Heterochromatin enthält z. B. die spezielle, repetitive DNS-Sequenzen der Chromosomenenden (Telomer-Region) sowie in manchen Spezies die ebenfalls spezielle, repetitive satelliten DNS der Einschnürungen der Chromosomen. Diese Art des Heterochromatins wird auch als konstitutives Heterochromatin benannt. Fakultatives Heterochromatin: enthält kodierende Sequenzen die ggf. zu aktiven, transkribierenden Chromatin werden.

**snRNS:** Prüfungsirrelevant.

**Seite 37, Abb. 2.37:** kann man überspringen.

### **Zur Seite 39 „Kernmatrix“**

**Die Interchromatinsubstanz:** Nach licht- und elektronenmikroskopischen Aufnahmen kann man im Zellkern Chromatin und Interchromatinsubstanz unterscheiden. Die Interchromatinsubstanz enthält Filamente, makromolekulare Komplexe sowie in Kerngrundsubstanz) gelöste kleine Moleküle, Ione. Nukleoplasma: Gesamtkernsubstanz, Nukleosol: flüssiger Anteil der Nukleoplasma (vgl. Zytoplasma-Zytosol). Matrixfilamente und Lamine bilden den Nukleoskeleton (Kerngerüst).

### **Zur Seite 39 „Zellorganellen“**

Es wird empfohlen, Endozytose (2.1.6), intrazelluläre Membransysteme (2.4.2-2.4.8) sowie Sekretionstypen (Seite 86), Abb. 2.17 (Seite 24), Abb. 2.47 (Seite 44), Abb. 2.51 (Seite 47) zusammen zu wiederholen.

### **Zur Seite 40 „Endocytose“**

Durch Endocytose in die Zelle gelangte Rezeptore (und Membranabschnitte) können im frühen Endosom wieder in Vesikeln abgeschnürt und in die Zellmembran zurückgeführt werden. Durch Endocytose gelangen auch solche Stoffe in die Zelle, die nicht am Plasmamembran wirken, sondern direkt im Kern oder in Mitochondrien einen Effekt ausüben.

### **Zur Seite 40 „Glattes endoplasmatisches Retikulum“**

Entgiftende Funktionen (S. 42): erste zwei Sätze reichen.

### **Zur Seite 43 „Golgi-Apparat“**

Die Lipide (z. B. Glikolipide, Sphingomyelin) der besonderen Lipid-Rafts werden auch im Golgi-Apparat gebildet. Hier werden auch Glukosaminoglykane (alter Begriff: Mucopolysaccharide, siehe auch bei der extrazellulärer Matrix) zu Proteinen verknüpft. Solche Proteoglykane gelangen entweder in die extrazelluläre Matrix oder werden als schleimartiges Sekret aus Drüsen abgegeben.

### **Zu Protein- bzw. zu vesikulärem Transport, Abb. 2.17 (Seite 24) und Abb. 2.51 (Seite 47)**

Gemeinsamkeiten bei der Sortierung der Proteine:

- Proteine müssen für die Bestimmungsort markiert werden. Der Marker kann ein Kohlenhydratanteil, ein Peptidanteil oder ein Signal-Fleck (aus Aminosäuren, die wegen der terziären Struktur des Protein nebeneinander liegen) sein.
- Bei jedem Schritt unterlaufen die Proteine eine Kontrolle, fehlerhafte Proteine werden

- -----durch Chaperone (Heat-Shock Proteine, Protein Hebammen) repariert, oder
- -----in Lysosome abgebaut (zytosolische oder membrangebundene Proteine),
- -----in Proteasome abgebaut (zytosolische),
- ----- oder sie bilden Aggregate, wie z. B. bei Alzheimer-Krankheit.

Bei Proteasomen: den Begriff, Funktion kennen.

Proteine können in

- Vesikeln oder
- durch Translokonen (in Mitochondrien, Lysosomen)  
... in membranumhüllte Organellen gelangen.

Sie können die Zelle durch

- Exocytose oder
- durch andere Wege (ABC-Transportsysteme, Multidrog Resistenz Protein) verlassen.

Gemeinsame Schritte des vesikulären Transports sind (bei allen Kompartimenten)

- Kennzeichen (wohin muss der Vesikel transportiert werden und was soll mit dem Inhalt passieren?)
- Abknospen vom Donorkompartiment (dabei helfen oft spezielle Proteinhüllen, z. B. Clathrin-Hülle)
- Wanderung (entlang Mikrotubuli)
- Erkennung des Targets und Bindung zum Target (Andocken)
- Verschmelzung mit dem Targetkompartiment (SNARE Proteine auf Seite 25: Es reicht zu merken, daß die Fusion von Vesikeln mit den Zielmembranen mehr als eine reine physische Abnahme der gesamten Membranoberflächen bedeutet, wie z. B. die Verschmelzung von Lipidtrofen in wässrigem Medium).

Die Bestandteile der Vesikelmembrane werden meistens (nachdem der Vesikelinhalt das Targetkompartiment erreicht hat) zum Donorkompartiment zurückgeführt.

### **Zur Seite 45 „Lysosomen“**

Durch lysosomale „Abbau“ werden oft nützliche Produkte für die Zelle freigesetzt. Solche werden meistens Richtung Golgi-Apparat transportiert. Lysosome spielen in der Aufbereitung der Antigene auch eine Rolle, diese ist zum Immunantwort notwendig. Es genügt, einige Beispiele, 2-3 lysosomale Enzyme bzw. 2-3 lysosomale Funktionen zu kennen.

### **Zur Seite 23 „Exocytose“, auch zur Abb. 3.1.26 (Seite 86)**

Nicht nur Hormone oder Verdauungsenzyme, sondern z. B. auch die Komponente der extrazellulären Matrix (Kollagen, Proteoglykane) werden sezerniert. Intrazellulär kommen die

Proteine meistens in einer Pre-Pro-Form vor, zur Sekretion soll ein Signalpeptid-Abschnitt, zur Aktivierung eine weitere Peptidabschnitt abgespaltet werden. Vor der Exocytose wird das sezernierende Produkt in zymogenen Granulen konzentriert.

### **Zur Seite 86 „konstitutive Exocytose“**

Die konstitutive Exo- und Endocytose bedeutet die kontinuierliche Verschmelzung/Abschnürung von kleinen Vesikeln in die Plasmamembran und dient der Membranerneuerung. So kann die Zelle z. B. die Zusammensetzung sowie die Dichte ihrer Plasmamembran-Rezeptoren, Ionenkanäle verändern. Mit diesem Prozess werden auch die Moleküle des Glykokalyxes abgegeben.

### **Zur Zusammenfassung der Exo- und Endocytose:**

Exocytose und Endocytose sind oft miteinander verkoppelt (Membranrezirkulation). Wenn exo- und endocytotische Prozesse miteinander nicht im Gleichgewicht stehen, erfolgt eine Zu- oder Abnahme der Zelloberfläche, was wiederum zur Form- oder Volumenänderung der Zelle führt.

### **Zur Seite 49**

Aufzählung der Funktionen (an Innenmembran oder an Matrix gebunden) ist ausreichend.

### **Zur Seite 56**

**Aktinfilamenten** haben/spielen eine Rolle auch in amöboider Bewegung. Sie können verschieden angeordnet sein: Kortex (unter der Plasmamembran), Bündel (in Mikrovillus), Ring (bei Zellteilung, um die Zelle).

### **Zur Seite 57 „Aktinassozierte Proteine“ Membranskelett:**

Eine an der Zellperipherie liegende, 'kortikale' Aktin-Schicht kommt in vielen (möglicherweise in allen) Zelltypen, unterhalb der Plasmamembran vor. Dieses 'Membranskelett' spielt bei der Formerhaltung der Zelle sowie bei Kontrolle der Membranstabilität, der Aufrechterhaltung der Verteilung der Membrankomponenten (Ionenkanälen, Rezeptoren, Rafts u. s. w) eine wichtige Rolle (siehe auch Abb. 2.15. S. 23). Außerdem entsteht der kontraktile Ring bei der Teilung des Zytoplasmas aus den kortikalen Aktin-Filamenten.

Spektrin (besser gesagt Mitglieder der Spektrin-Familie) kann als Aktin-assoziertes Protein angesehen werden. Sie beteiligen sich an der Entstehung des Membran-Skeletts: Bei Formerhaltung der roten Blutkörperchen spielt (neben den Besonderheiten des Hämoglobins) das Spektrin-Gerüst eine Rolle. Das Spektrin-Gerüst wird durch Ankyrin ( $\alpha\text{v}\mu\text{v}\text{Q}\alpha$  = Angel, Anker vergl. anchor) zur Plasmamembran verbunden. In Neuronen kommt der spektrinverwandte

Fodrin vor. Dystrophin und Utrophin (siehe Dystroglykan-Komplex) sind ebenfalls Mitglieder der Spektrin-Familie: sie bilden ein Gerüst, das einerseits an Aktin bindet, andererseits am zellmembrangebundenen Dystroglykan verankert ist. Dieses System spielt vor allem in Muskeln, aber auch im Gehirn (Glia-Gefäßverbindung) eine Rolle.

### Zur Seite 57 „Intermediärfilamente“

Weitere wichtige Mitglieder sind: Glial fibrillary acidic protein (GFAP), Neurofilamentum Protein, Nestin.

Intermediär Filamente sind typisch für den Gewebetyp, aus welchem die jeweilige Zelle stammt. Deswegen wird der Nachweis von intermediären Filamenten in der Tumordiagnose verwendet.

### Einteilung der Intermediärfilamente

Gruppe	Name	Molekulargewicht	Mitglieder	Vorkommen
Typ I	Saure Keratine	40-57 kDa	über 15	Epithelien
Typ II	Basische Keratine	53-67 kDa	über 15	Epithelien
Typ III	Desmin	53 kDa	1	Muskel
	GFAP	50 kDa	1	Astroglia
	Vimentin	57 kDa	1	Fibroblast, meistens unreife Formen
Typ IV	Neurofilament, leicht	62 kDa	1	Neurone
	Neurofilament, mittel	102 kDa	1	Neurone
	Neurofilament, schwer	110 kDa	1	Neurone
	Nestin	240 kDa	1	unreife Abkömmlinge des Neuroepithels
Typ V	Lamin A	70 kDa	1	in jedem Zellkern
	Lamin B	67 kDa	1	in jedem Zellkern
	Lamin C	67 kDa	1	in jedem Zellkern

**Auch zu intermediären Filamenten sind Proteine assoziiert** (die sogenannten „intermediate filaments associated proteins“ IFAPs). Sie werden durch ihr Molekulargewicht

unterschieden. Eine besondere Rolle spielt hier Plektin. Plektin ist eigentlich ein IFAP, kann sich aber auch an Aktinfilamente binden, er verbindet also die beiden Systeme miteinander. Er könnte sich auch an Verankerung zur Zell- bzw. Kernmembran beteiligen da er auch zu Plakinen gehört (Proteine, die die intermediären Filamente an Orte der Zelladhäsion binden, siehe Desmosom-Desmoplakin).

### Zur Seite 59 „Zellzyklus“

In adulten Organismen, wo die verschiedenen Aufgaben der für die jeweilige Aufgabe spezialisierten Zellen erfüllt sind (diese Zellen befinden sich in der  $G_0$ -Phase der Zellteilung), teilt sich nur ein Anteil der Zellen. Die Teilung (dient den Nachschub von kurzlebigen differenzierten Zellen) ist auf Stammzellen oder auf solche differenzierten Zellen beschränkt, die unter bestimmten Umständen teilungsfähig sind. Die Zellen können je nach Teilungsfähigkeit in fünf Gruppen unterteilt werden:

1 Zellen, die sich ständig teilen: Die Tochterzellen aus einer Zellteilung treten erneut in die Zellteilung hinein. Unter bestimmten Umständen können sie in die  $G_0$ -Phase treten und sich differenzieren. Betrachtet man die Kontrolle des frühen embryonalen Zellzyklus, so läuft er ziemlich einfach ab. Der Zyklus ist kurz (dauert etwa 8 Minuten), die Zellen wachsen nicht, sondern ihre Größe nimmt ab.

2 Zellen, bei denen eine Tochterzelle sich erneut teilt, die andere dagegen (nach weniger Zellteilungen) in die  $G_0$ -Phase tritt. Dies ist charakteristisch für die Stammzellen der Organe, die die physiologische Regeneration (Nachschub von Zellen, die während der normalen Funktion des Organs abgenutzt worden sind) des jeweiligen Organs gewährleisten.

3 Bestimmte Zellen, die sich in  $G_0$ -Phase befinden und (nach entsprechendem Signal wie z. B. Wachstumsfaktore) vorübergehend in  $G_1$ -Phase treten und sich teilen werden. Nach der Teilung treten die beiden Tochterzellen in die  $G_0$ -Phase und teilen sich nicht weiter. Dies kommt in solchen Organen (z. B. in Leber) vor, wo keine undifferenzierten Stammzellen vorkommen.

4 Ausdifferenzierte Zellen in der  $G_0$ -Phase, bei denen normalerweise keine weitere Teilung induzierbar ist. In diese Gruppe gehören Neurone und Skelettmuskelfasern.

5 Bösartige Tumorzellen bilden eine spezielle Gruppe, sie sind die normale Kontrolle der Zellteilung umgangen.

Bei der Züchtung von Zellen aus mehrzelligen Organismen wurde beobachtet, daß normale Zellen nur etwa fünfzigmal teilen (Hayflick-Limit). Nach bestimmter Anzahl von Zellteilungen entsteht die sogenannte **postmitotische Zelle**, die sich nicht mehr teilt. Danach werden die Zellen alt und die Mehrheit stirbt ab. Es gibt aber auch solche Zellen, die (nach Akkumulation

genetischen Veränderungen, Mutationen) ihre Teilungsfähigkeit für unbestimmte Zeit behalten. Solche Zellen nennt man transformierte Zellen (siehe oben Typ 5).

### **Zur Seite 60 „Zellpopulationen“ sowie „Zellzyklus-Kontrollsystem“**

Das Kapitel beschreibt die Kontrolle der Zellteilung ( $G_0$ - $G_1$  Übergang) und dient nur als Orientierung (näheres siehe Bücher der Biochemie). Das Schema gilt auch für weitere Systeme, wo die Prozesse durch Membranrezeptoren reguliert werden.

Zellen in Zellkultur benötigen Wachstumsfaktore und eine geeignete Oberfläche zum Anheften. Das Anheften setzt fokale Adhäsionskinase (FAK) und die Signaltransduktionswege in Gang, dadurch wird die Zellteilung induziert. Wenn normale Zellen die zur Verfügung stehende Oberfläche bedeckt haben, wird die weitere Zellteilung aufgehoben (Densität abhängige Hemmung der Zellteilung, früher: Kontakthemmung).

Wachstumsfaktoren wirken durch Rezeptoren in Plasmamembran. Diese Rezeptoren haben eine Transmembrandomän. Entweder funktionieren sie selbst als Enzyme oder sind an Enzyme (meistens Kinase) gekoppelt. Wachstumsfaktoren: näheres siehe Entwicklungsbegriffe

Kinase sind Enzyme, die andere Proteine (Enzyme oder andere) phosphorylieren und dadurch ihre Aktivität ändern (κίνησις = bewegen). Tyrosin -Kinasen fügen eine Phosphat-Gruppe (durch Estherbindung) zur Hydroxylgruppe des Tyrosins. Die Aktivierung von mehreren, hintereinandergeschalteten Kinasen resultieren in Signalverstärkung als ob jeder die Nachricht an zehn andere Personen weitergeben würde, Cascade=Wasserfall).

Frühe Gene (early genes) werden auf ein Stimulus innerhalb von wenigen Minuten und transient transkribiert (allgemeine Zellantwort). Sie kodieren mRNS für weitere Transkriptionsfaktoren, die für die Transkription weiterer Gene (späte Gene, spezifische Zellantwort) nötig sind. Frühe und späte Gene spielen bei Zellteilung, aber auch bei Aktivierung der Zelle (z. B. Aktivierung von Neuronen) eine Rolle. Der Nachweis von Aktivierung frühen Gene in eine Neuronengruppe ist ein Hinweis für die Aktivierung der jeweiligen Neurone.

Dieser Mechanismus ist nicht nur bei der Zellteilung, sondern in anderen Prozessen gültig (siehe auch Signaltransduktion).

### **Proto-Onkogene, Tumor-supressor Gene**

Proto-Onkogene vermitteln den Effekt von Wachstumsfaktoren (siehe weiter oben), Tumor-supressor Gene hemmen die Teilung von fehlerhaften Zellen an den Kontrollpunkten des Zellzyklus (Seite 59). Solche Zellen gehen dann durch Apoptose (Seite 69) zugrunde.

Diese zwei Genfamilien regulieren den Zellzyklus. Produkte von Proto-Onkogene fördern, die Tumor-supressor Gene hemmen die Zellteilung. Manche Mutationen von Proto-Onkogene

(solche, die zum überaktiven Genprodukte führen) resultieren in Krebsentstehung. Eine Kopie des mutierten Genes reicht aus, um die Störung zu verursachen, die Mutation ist also dominant. Das mutierte Proto-Onkogen wird in dem Fall als Onkogen genannt. Der Ausfall von beiden Kopien eines Tumor-supressor Gens (rezessive Wirkung) kann ebenfalls zur Krebsentstehung führen. Die im Buch erwähnte p53- sowie Retinoblastom-Gene sind die wichtigste Tumor-supressor Gene.

Zur Zellzykluskontrolle siehe auch Telomere und Telomerase (seite 38).

**Amitose** wurde früher regelmäßig erwähnt und bedeutet eine Verdoppelung des Zellkerns ohne Entstehung von Chromosomen und mitotischer Spindel. Das Chromatin wird ungleich auf die Zellkerne verteilt. Heutzutage wird Amitose nicht zur Zellteilung gerechnet, sondern bedeutet lediglich die Verdoppelung der Kernsubstanz in einigen großen Zellen (z. B. Leberzellen, Schirmzellen).

**Plasmodium, Syntitium:** beide Begriffe werden für mehrkernige Zellen verwendet, ihre Entstehung ist aber unterschiedlich. Im Plasmodium teilt sich der Zellkern mehrmals, ohne Zytoplasmateilung. Typisches Beispiel ist der Erreger von Malaria. Syntitium entsteht jedoch durch Verschmelzung einkerniger Zellen. So entstehen Skelettmuskelfasern, Osteoklasten, Chondroclasten, Odontoclasten (baut Milchzähne ab), Fremdkörper-Riesenzellen (siehe Pathologie) sowie Syntitiotrophoblasten. Megakaryozyten sind dagegen polyploide Riesenzellen, die wegen der komplizierten Zellkernform mehrkernig erscheinen.

#### **Zur Seite 65 „Stammzellen und Tochterzellen“**

Stammzellen sind nicht unbedingt toti- oder multipotent, sie können auch unipotent sein, z. B. Spermatogonium.

**Stammzellen:** sind solche Zellen, bei denen minimum eine Tochterzelle die gleiche Beschaffenheiten wie die Mutterzelle zeigt. Im Fall kann die andere Tochterzelle sich weiterentwickeln (asymmetrische Teilung; bei symmetrischer Teilung entstehen zwei gleiche Tochterzellen). Die Stammzellpopulation ist also selbsterhaltend. Das Potenzial wird schrittweise während der Entwicklung eingeengt. Die ersten Blastomere sind noch totipotent. Später sind die Zellen nur noch multi- bzw. pluripotent. Das Potenzial einer Stammzelle kann unterschiedlich sein: mesenchymale Stammzellen sind pluripotent, während die Stammzellen für die Gameten unipotent sind. Progenitorzellen sind Zellen mit bereits beschränktem Entwicklungspotenzial, es ist abzusehen, zu welchen Zellen sie sich entwickeln werden. Sie sind meistens nur für eine bestimmte Anzahl von (symmetrischen) Zellteilungen fähig. Prekursorzellen sind noch nicht ganz ausdifferenzierten Vorstufen von reifen Zelltypen. Die zwei Begriffe werden nicht immer klar

auseinandergehalten. Über das Entwicklungspotential siehe auch das Skript „Entwicklungsbiologische Begriffe“.

### **Weitere Ergänzungen zum Kapitel „Zellzyklus“**

**Mutationen:** Bei (Punkt)Mutationen wird bei der Replikation eine falsche Base in die DNS eingebaut (Wahrscheinlichkeit: 1 zu  $10^9$ ). Mutationen können auch im kodierten Protein manifestieren. Mutationen bilden die Grundlage der Evolution.

**Weitere Mutationen:** Deletion: ein Stück aus dem Chromosom fehlt.

Inversion: das mutierte DNS Stück wird umgekehrt ins Chromosom eingebaut.

Translokation (Transposition): ein Stück des Chromosoms wird auf ein anderes Chromosom versetzt.

Die obigen Beispiele sind Chromosomen-Mutationen.

Punktmutation bedeutet kleine Änderungen im Nukleotidensequenz (meistens ist eine Base betroffen).

Genommutation ist eine Veränderung der Zahl der Chromosomen (z. B. die Non-disjunction).

Euploidia: die Anzahl der Chromosomen entspricht der (für die Spezies charakteristischen) kleinsten Grundanzahl der Chromosomen oder deren Mehrfache (bei Menschen: 23; Haploidia, Diploidia, Tri-, Tetra-, Polyploidia, siehe z. B. Megakaryozyten). Aneuploidia: Anzahl der Chromosomen ist von euploiden Anzahl unterschiedlich.

Mutationen und Crossing over können auch in somatischen Zellen vorkommen (somatische Mutationen). Wenn Mutationen während der Entwicklung auftreten, sind die betroffene Zellen (und alle deren Abkömmlinge) unterschiedlich als das restliche Organismus. In dem Fall spricht man über Mosaizismus (z. B. unterschiedliche Augenfarben der beiden Augen).

### **Zur Seite 69, Wachstumsfaktore**

Siehe auch bei den „Entwicklungsbiologische Begriffe“.

## **Zum Kapitel 3.1 „Epithelgewebe“**

### **Zur Seite 72 „Polarer Aufbau“**

Außer Epithelzellen können auch andere Zellarten polarisiert sein (z. B. Neurone, perivaskuläre Gliazellen).

**Zur Seite 73 „Basallamina“**

All drei ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) Laminin-Ketten kommen in mehreren Isoformen vor, die zu einer Vielfalt von Laminin-Molekülen zusammengefügt werden können. Auf der gleiche Weise besitzen die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Ketten des Integrins (Hauptrezeptor für Laminin) auch mehrere Isoformen, dies ermöglicht auch eine große Anzahl von Kombinationen.

**Zur Seite 74 zum Ende „Basallamina“**

In manchen Fällen liegen an beiden Seiten der Basallamina Zellen. Solche Situation kommt z. B. bei Gefäßen vor, wo das Endothel in enge Nachbarschaft mit anderen, epithel-ähnlichen Strukturen (wie z. B. Podozyten in der Niere, Alveolusepithel der Lunge, perivaskuläre Gliazellen des Nervensystems) kommt. In solchen Fällen verschmelzen eigentlich zwei Basalmembrane, Zona reticularis fehlt, an beiden Seiten der Lamina densa (also Richtung beider Zellschichten) liegt Lamina rara (lucida).

**Zur Seite 99 „Kollagenfasern“**

Kollagensynthese:

Kollagen wird als Prokollagen in den Zellen gebildet und ist reich an Aminosäuren Prolin und Lysin. Diese werden nach dem Einbau hydroxyliert, deswegen ist Vitamin-C bei der Bildung von Binde- und Knochengewebe sowie bei Wundheilung wichtig. Prokollagen wird aus der Zelle abgegeben und nach enzymatischer Abspaltung eines Peptidantelis wird zu Prokollagen, die wiederum zu Kollagenfasern polymerisieren. Dabei helfen die Hydroxylgruppen des Prokollagens bzw. die eingebaute Glukosaminoglikan (GAG) Moleküle (die für die PAS-Positivität zuständig sind).

**Zur Seite 103 „Elastin“**

Ähnlich zur Kollagensynthese wird Elastin aufgebaut, hier spielt die Aminosäure Lysin eine Rolle, die durch Querverbindung zum Desmosin wird.

In der Gefäßwand sind auch glatte Muskelzellen zur Bildung von Bindegewebsfasern fähig.

## **Entwicklungsbiologische Begriffe**

**Entwicklungspotenzial**

Aus totipotenten Zellen können alle Zelltypen eines Organismus entstehen. Pluri- bzw. multipotente Zellen können sich zu mehreren Zelltypen entwickeln. Unipotente Zellen können sich nur zu einem einzigen Zelltyp entwickeln. Während der Ontogenese wird das Potenzial der Zellen eingeschränkt. Diese Einschränkung des Entwicklungspotentials wird als Determination

genannt: es wird bestimmt, welche Zelltypen sich aus einer Zelle entwickeln können. Danach kommt die Differentiation: die Zellen erreichen ihre endgültige Form und können ihre endgültige Funktion ausüben. Manche Zelltypen (wie z. B. Neurone) wandern erst als postmitotische Zellen zu ihrem Bestimmungsort und fangen dort mit der Differentiation an. Andere Zellen (z. B. Keimzellen) proliferieren (auch) am Bestimmungsort weiter. Wenn eine Zelle früh genug in eine andere Umgebung kommt (Transplantation in ein anderes Organ/Tier, Auszuchtung in Zellkultur), kann die Entwicklung der Zelle (je nach Determination) in eine andere Richtung ablaufen.

### **Induktionsfaktoren**

In der Kontrolle der bisher erwähnten Schritte der Entwicklung spielen **Wachstumsfaktoren** (growth factors, GF), und andere humorale (endokrine, parakrine) Effekte z. B. Zytokine, die extrazelluläre Matrix sowie die Verbindungen mit anderen Zellen eine wichtige Rolle. Sie induzieren die Entstehung gewisser Eigenschaften, die Entstehung anderer Eigenschaften wird dagegen (vorübergehend oder dauerhaft) gehemmt. Zu den frühesten Induktionsschritten gehört die Bestimmung von Körperhauptachsen bzw. -richtungen. Induktionsvorgänge regulieren die Genaktivität, die Transkription in bestimmten Körperarealen, Organen (siehe auch Proteinsynthese in Lehrbücher der Biochemie). Die Funktion des Induktionsfaktors kann man nicht immer vom Namen ableiten (wie z. B. sonic hedgehog, notch, diese sind Signalproteine sezerniert von anderen Zellen). Hox, Pax, Krox, Nkx u. s. w. Gene (alle auch mit Zahlen versehen, siehe weiter unten) kodieren Transkriptionsfaktore. Transkriptionsfaktore sind Proteine, die nötig sind, um die Transkription zu initiieren oder zu regulieren, und die Genaktivität der Zellen zu beeinflussen. Äußere Signale wirken durch sie.

Der Name der Wachstumsfaktoren stammt vom Organ, aus dem der Faktor zum ersten Mal isoliert wurde. Ihr Wirkungsspektrum ist aber oft viel breiter, als man vom Name ableiten würde: sie beeinflussen mehrere Funktionen von mehreren Zelltypen, in mehreren Gewebsarten. Der Hauptunterschied zwischen Wachstumsfaktore und Zytokine liegt im Angriffspunkt bzw. im Wirkungsmechanismus, obwohl der Endeffekt ähnlich sein kann.

**Hox-Gene** enthalten einen konservativen DNS-Abschnitt (Homeobox, daher der name Hox, der kodierte Proteinanteil nennt sich Homeodomän) und einen variablen Abschnitt. Hox-Gene befinden sich in der gleichen Reihenfolge am Chromosom, wie sie die Entwicklung der Körperteile in antero-posterior Richtung bestimmen. Ihre Aktivierung wird von mehreren Transkriptionsfaktoren und Signalen von Zellmembranrezeptoren reguliert. Die Mitglieder der Hox-Genfamilie werden entlang der antero-posterior Achse in verschiedenen Kombinationen aktiviert. Diese Gene leiten die Entstehung verschiedener Organe in den ursprünglich

gleichförmigen Segmenten des Embryos (siehe auch die Entwicklung des Darmrohrs, Urniere, Kiemenbögen, Hirnstamms).

**Pax-Gene** (paired box genes) enthalten auch einen konservativen „Box“, in breiterem Sinn können sie auch als Homeobox-Gene angesehen werden. Sie spielen eher bei der Entstehung von Organsystemen (nicht von Körperregionen) eine Rolle.

Ein wichtiger Aspekt ist die Erkennung, daß das Gensystem, das die Entwicklung reguliert, phylogenetisch sehr alt und konservativ ist. Wenn man Regulatorgene der Insekten (z. B. *Drosophila*) betrachtet, sind diese sehr ähnlich den Genen der Wirbeltiere, sie können einander sogar ersetzen.

### **Induktionsketten**

Induktionseffekte bilden hierarchische Ketten. Als primäres Organisatorzentrum dient die obere Lippe des Urmundes, dies entspricht bei Menschen (im Allgemeinen: bei Reptilien, Vögeln und Säugetieren) dem Vorderrand der primitiven Grube. Es induziert die Aktivierung sekundärer Organisationszentren. Die Zelle bzw. das Organ, dessen Entwicklung durch Induktion in Gang gesetzt wurde, induziert selbst die Entwicklung weiterer Strukturen. Wenn die Kette gebrochen wird, stoppt die weitere Entwicklung. Es gibt daher solche Entwicklungsphänomene, die zwecklos erscheinen, aber in früheren Stadien der Phylogenese, bei unseren Urahnen wichtig waren. Man sollte es im Kopf behalten, falls man in der Embryologie „sinnloser“ Entwicklungsschritte zustoßt. Beispiele sind Hypoblasten, Dottersack, Canalis neurentericus, Urniere, Kiemenbögen, Operculum (Kiemendeckel bei Fischen). Weiteres Beispiel ist das Allantois, was sich bei Vögeln und Reptilien zwischen Amnion und Eischale befindet und als flacher Sack das gesamte Embryo überzieht. (Diese Begriffe werden später bei der Embryologie auftauchen.)

### **Tochterzellen: identische Genome - verschiedene Entwicklungsrichtungen?**

Wie können sich Zellen, die über den gleichen genetischen Bestand verfügen, in verschiedene Richtungen entwickeln? Verschiedene Zellen sind verschiedenen Signalen aus der Umgebung ausgesetzt. Wie laufen diese Prozesse bei der frühen Stadium der embryonalen Entwicklung ab, z. B. bei der Teilung der Zygote oder bei Zellen der Morula? Bei der Zellteilung wird der Chromosomenbestand symmetrisch zwischen den Tochterzellen aufgeteilt, bei der Zytoplasmateilung ist es nicht der Fall. In der Zytoplasma können die Faktoren, die die Entwicklung beeinflussen, ungleich verteilt werden, dadurch können sie das Schicksal der beiden Tochterzellen ungleich steuern. An der Zygote ist die Eintrittsstelle des Spermiums sowieso besonders. Bei der Entstehung der Morula können die Zellen in zwei Umgebungen gelangen: die

inneren Zellen sind nur an anderen Zellen verbunden, die äußeren Zellen kommen auch mit der Außenwelt in Kontakt. Später nimmt der Unterschied zwischen den verschiedenen Zellen immer mehr zu.

### **Programmierter Zelltod**

Zellen, die den Bestimmungsort nicht erreicht haben oder bei der Differentiation gehemmt worden, gehen meistens spontan, durch programmierten Zelltod (Apoptose) zugrunde. Auch „überflüssige“ Zellen, die die nötigen Zell-Zellkontakten nicht aufgebaut haben oder bei denen das nötige Signal (meistens Wachstumsfaktore) fehlt, gehen durch Apoptose zugrunde. Wachstumsfaktoren wirken oft durch Hemmung der Apoptose. Von Apoptosenmechanismus zu merken: Rolle von Cytochrom-C, Caspase-System, Death-Genen. Apoptose wird nicht von Entzündungsreaktionen begleitet.

### **Mechanismen der Morphogenese**

Bei der Entstehung von Zellaggregaten aus gleichen Zellen spielen die homophile Verbindungen, besonders die Cadherine, eine wichtige Rolle. Der extrazelluläre Matrix kommt bei der Lenkung der Zellwanderung eine wichtige Rolle zu, siehe z. B. die Rolle der Lamina basalis bei Hornhautverletzungen.

Bei der Morphogenese (Formbildung) ist das ungleiche Wachstum von besonderer Bedeutung. Wenn z. B. die eine Seite einer länglichen Struktur am Wachstum zurückbleibt, entsteht eine Krümmung. Wenn darüber gesprochen wird, dass eine Struktur kleiner, enger wird oder einsinkt, sind in der Wirklichkeit meistens die benachbarte Strukturen, die sich vergrößern, überragen. Bei Gefäßen, Nerven, die Muskeln, Knochen anscheinend durchbohren, wächst der Muskel oder der Knochen um die Leitungsbahnen herum.