

Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Band: 21 (1965)

Artikel: Darstellung von markierten Proteinen

Autor: Rohr, H.P.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-307611>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 06.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Pathologisches Institut der Universität Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. H. U. Zollinger)
und Pathologisches Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. E. Uehlinger)

Darstellung von markierten Proteinen

Diskussionsbeitrag von H. P. Rohr, Freiburg i.Br.

Die Darstellung markierter Proteine hat nicht nur in der Biochemie und der Immunologie, sondern auch in der Morphologie Eingang gefunden. Die fruchtbaren Ergebnisse der lichtmikroskopischen Autoradiographie gaben den Anstoß zur Anwendung dieser Methode in der Elektronenmikroskopie, mit der die Möglichkeit gegeben ist, die Biosynthese von Proteinen auch elektronenoptisch darzustellen. Die wesentlichsten Probleme sind dabei die Herstellung eines möglichst dünnen Emulsionsfilms über dem Ultradünnschnitt und die Strukturhaltung. Wir haben dazu die «Zentrifugenmethode» von *Koehler, Mühlethaler* und *Frey-Wyssling* weiterentwickelt und zu vereinfachen versucht.

Einige Beispiele sollen Ihnen kurz die Möglichkeiten dieser Methode illustrieren:

Über dem dünnen Emulsionsfilm liegen die Silberkörner in einer einschichtigen Lage von Silberbromidkristallen, welche nach Belichtung und Entwicklung als regelmäßig verteilte knäuelige Silberkörner zur Darstellung kommen.

Bei unsern Versuchen haben wir Schnitte von Tieren mituntersucht, die den DNS-Vorläufer H^3 -Thymidin erhalten hatten, um auf Grund des bekannten Einbaumusters eine Kontrolle über die Homogenität der Emulsionsschicht zu haben. Über dem elektronenmikroskopischen Autoradiogramm einer Mäusemilz liegt die Thymidinmarkierung nur über den Zellkernen. Die Zellstrukturen sind gut zu erkennen.

Versuche mit H^3 -Cytidin, dem RNS-Vorläufer, zeigten, daß bereits 5-10 min nach der Injektion eine starke Markierung des Nucleolus erfolgt, teilweise liegen die Silberkörner auch über Kernchromatinstrukturen.

Bei spätern Versuchszeiten sind die «Cytidin-Silberkörner» gleichmäßig über den Kern verteilt, es finden sich Aktivitätseinlagerungen an den Strukturen des endoplasmatischen Reticulums.

Bei Versuchen mit H^3 -Prolin zur Kollagensynthese konnten wir im elektronenmikroskopischen Bilde eindeutig nachweisen, daß bei frühen Versuchszeiten die Prolinmarkierung nahezu ausschließlich über dem endoplasmatischen Reticulum und den Cisternen der Osteoblasten erscheint. Die Synthese der Kollagenvorläufer findet somit in der Zelle selbst statt (Abb. 1). 4 Std. nach der Prolininjektion läßt sich kaum noch intracelluläre Aktivität nachweisen, dagegen beobachtet man eine große Silberkornzahl über

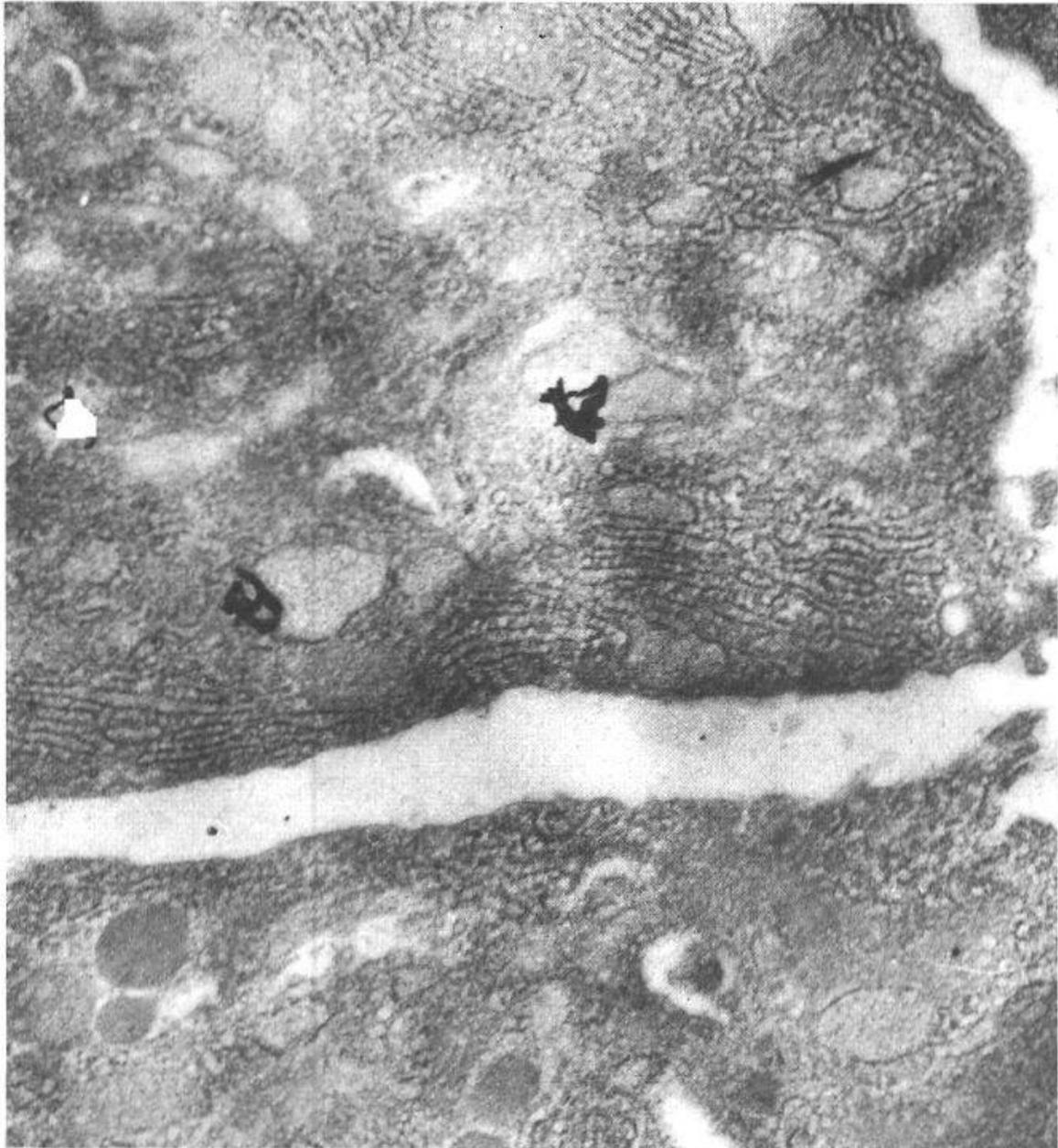


Abb. 1. Primäre Tibiaspongiosa der Ratte. Autoradiogramm, 30 min nach Injektion von H^3 -Prolin. Die H^3 -Prolin-Silberkörner (in typischer Weise aufgeknäuel) liegen in den stark erweiterten Cisternen des endoplasmatischen Reticulums. – Ges. Vergr. 26 000 \times . Arch. Nr. 360/64.

den Kollagenfibrillen der präossären Zone. Die Aktivität ist aus der Zelle ausgeschleust worden (Abb. 2).

Ich hoffe, daß Sie sich überzeugen konnten von der Möglichkeit, mit Hilfe dieser Methode markierte Vorläufer des Eiweißstoffwechsels bestimmten Ultrastrukturen der Zelle zuzuordnen. Diese Methode gestattet es z. B., die Synthese von Proteinen zeitlich und topographisch über bestimmten Zellstrukturen zu verfolgen. Manche biochemische, virologische und immunologische Ergebnisse können so auf morphologischer Ebene eine Bestätigung finden.

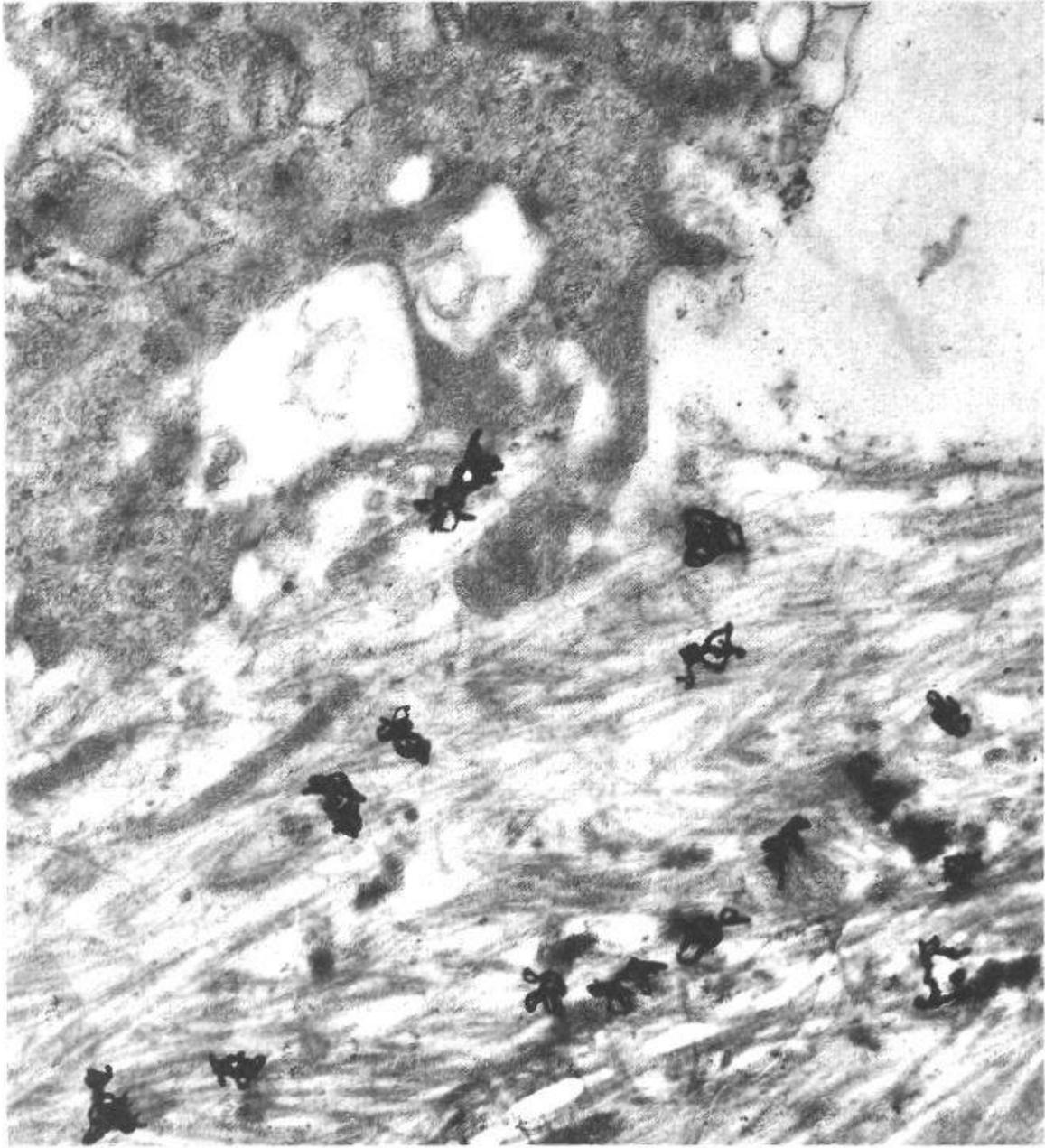


Abb. 2. Primäre Tibiaspongiosa der Ratte. Autoradiogramm, 60 min nach Injektion von H^3 -Prolin. Die Silberkörner, die dem in das neugebildete Kollagen eingebauten Prolin entsprechen, liegen über der präossären, noch nicht verkalkten Zone der Knochenbälkchen. - Ges. Vergr. 26 000 \times . Arch. Nr. 103/64.