Doppelbrechungsänderungen bei der aktiven Kontraktion des Fasermodells (aus Kaninchen-Psoas)

Von GERDA STRÖBEL

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen

(Z. Naturforsch. 7 b, 102—108 [1952]; eingegangen am 6. Oktober 1951)

1. Die Kontraktion Glycerin-Wasser-extrahierter Modellfasern aus dem m. psoas des Kaninchens findet nur bei sehr dünnen Fasern im ganzen Querschnitt gleichmäßig statt. Bei dicken Fasern findet sich bei maximaler Verkürzung ein positiv doppelbrechender Mantel um einen Kern, der in der üblichen Additionslage der Messung negativ doppelbrechend, isotrop oder sehr schwach positiv doppelbrechend erscheint.

2. Die Analyse der Auslöschrichtungen im Mantel und Kern ergibt, daß diese Besonderheiten der Doppelbrechung im Kern auf einer Schlingelung der Ketten der Eiweiß-Stäbchen beruhen. Im Mantel und im ganzen Querschnitt dünner Fasern sind die optische Achse und damit die Ketten der Eiweiß-Stäbchen auch nach der Verkürzung der Faserachse parallel. Bei dicken Fasern wird also offenbar der Faserkern durch die Verkürzung des Fasermantels gestaucht.

3. Bei dickeren Fasern verkürzt sich nur der Fasermantel, weil das ATP nur in den Fasermantel eindringt. Denn die Dicke des aktiven Fasermantels stimmt mit der Grenzsichtdicke der Eindiffusion von ATP überein. Der Kern wird gestaucht, weil er an der Kontraktion nicht teilnimmt.

4. Die Gesamtdoppelbrechung von dünnen Fasermodellen, die keinen Stauchungskern enthalten, ist der Doppelbrechung intakter Muskelfasern gleich — sowohl im unkontrahierten Zustand wie auch nach maximaler Verkürzung.

5. Im unkontrahierten Zustand ist bei Muskel- und Modellfaser auch die Zusammensetzung der Gesamtdoppelbrechung aus Eigen- und Stäbchendoppelbrechung gleich. Es ist anzunehmen, daß das gleiche auch für den verkürzten Zustand gilt.

6. Bei der Verkürzung nimmt die Gesamtdoppelbrechung ab, weil die Eigendoppelbrechung abnimmt. Die Stäbchendoppelbrechung bleibt in allen Imbibitionsmitteln unverändert, außer in Alkohol. Die Änderung in Alkohol beruht offenbar auf einer Nebenreaktion.

7. Also beruht die Verkürzung der Modell- und Muskelfaser auf einer Verkürzung der einzelnen Eiweiß-Stäbchen, deren Lage dabei parallel der Faserachse bleibt. Auch die verkürzten Eiweiß-Stäbchen sind immer noch so lang, daß sie den Bedingungen des Wienerischen Stäbchenmischkörpers genügen.

8. In Stauchungszonen, in denen die Richtung der Eiweiß-Stäbchen der Faserachse nicht mehr parallel ist, vermindern sich dagegen Eigen- und Stäbchendoppelbrechung proportional — bis zu negativen Werten.

9. Die Verkürzung der Faser ist mit einer Verdickung verbunden. Aber die Querschnittszunahme ist kleiner als die Längenabnahme. Bei maximaler Verkürzung (auf 20—30% der Anfangslänge) beträgt das Endvolumen etwa 60% des Anfangsvolumens.

I.

Bei der Muskelkontraktion nimmt die Doppelbrechung ab, wenig bei isometrischer Kontraktion¹, sehr beträchtlich dagegen, wenn Verkürzung erlaubt ist². Das Ausmaß der Doppelbrechung ist also bei der Muskelkontraktion ganz überwiegend bestimmt durch den Grad der Längenänderung und nicht oder nur unwesentlich durch den Übergang aus dem inaktiven in den aktiven Zustand. Es erhebt sich die

Frage, auf welcher Änderung der Feinstruktur die Abhängigkeit der Doppelbrechung von der Muskel-länge beruht.

Es ist polarisationsoptisch³ und röntgenoptisch⁴ gesichert, daß die passiven Längenänderungen von Aktomyosinsystemen nicht auf Richtungsänderungen, sondern ausschließlich auf Längenänderungen der einzelnen Eiweiß-Stäbchen beruhen. Es ist die Frage, ob das gleiche für die aktiven Längenänderungen

¹ A. v. Mural, Pflügers Arch. ges. Physiol. **230**, 299 [1932].

² v. Ebner, Pflügers Arch. ges. Physiol. **163**, 179 [1916].

³ H. H. Weber, Pflügers Arch. ges. Physiol. **235**, 205—233 [1934].

⁴ W. T. Astbury u. S. Dickenson, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **129**, 307 [1940].

gilt. Falls diese Frage polarisationsoptisch beantwortet werden soll, muß ermittelt werden, wie sich die Änderung der Doppelbrechung bei aktiver Kontraktion auf Eigen- und Stäbchendoppelbrechung verteilt. Das ist möglich bei der ATP-Kontraktion des sogenannten Fasermodells von A. Weber⁵.

II.

Die Wasser-Glycerin-extrahierte Einzelfaser des m. psoas des Kaninchens wird nach Befestigung in einem Dilatometer⁵ durch ATP zur Kontraktion gebracht und kann in jedem beliebigen Verkürzungszustand nach Entfernung des ATP fixiert werden (durch 5-proz. Formaldehyd). Die Doppelbrechung solcher verkürzter Fasern wird dann in verschiedenen Flüssigkeiten, deren Brechungsindices zwischen 1,33 und 1,69 variieren, gemessen und mit der Doppelbrechung fixierter, aber unkontrahierter und unverkürzter Fasern verglichen.

In der unkontrahierten Modellfaser ist die Doppelbrechung positiv. Dies war zu erwarten, denn es ist bei der lebenden Muskelfaser⁶ einerseits und beim voll geordneten Faden aus hochgereinigtem Aktomyosin³ andererseits ebenso. Für die kontrahierte Modellfaser gilt das gleiche zuverlässig nur für die äußeren Schichten bis zu einer Tiefe von 10–15 μ von der Oberfläche der Faser aus. Wir nennen diese äußeren Schichten den Fasermantel. Ist der Radius der Modellfaser wesentlich größer als 10–15 μ , so ist im Kern die Doppelbrechung häufig negativ, fehlt ganz oder ist zumindest als positive Doppelbrechung sehr stark vermindert.

Diese Abweichung der Kerndoppelbrechung dicker Fasern ($2r > 30\text{--}40\ \mu$) von der normalen positiven Doppelbrechung beruht nicht auf einer Verwandlung der Eiweiß-Stäbchen in Eiweiß-Kugeln oder Eiweiß-Plättchen.

Wird nämlich die kontrahierte Modellfaser mit ihrer Längsachse der Schwingungsrichtung des Analysators oder Polarisators parallel gestellt, so wird die Doppelbrechung des Fasermantels gelöscht, die Doppelbrechung des Kerns dagegen nicht. Im Fasermantel der kontrahierten Modellfaser liegt also ebenso wie in der lebenden Muskelfaser oder im geordneten Aktomyosinfaden die optische Achse parallel zur geometrischen Achse. Im Faserkern der kontrahierten Modellfaser ist dies offenbar nicht der Fall.

Wird die Modellfaser in der angegebenen Lage durch ein Rot-I-Plättchen betrachtet, so zerfällt der

	Faser	I	II	III		IV
				1. Stelle	2. Stelle	
1	Kontrah. Länge Anfangslänge · 100	35	32,5	27		19
2	Breite eines Abweichungsstreifens in μ	3,125	3,125	5,75	4,95	4,8
3	A + I. kontrah. Länge Anfangslänge in μ	0,76	0,705	0,58		0,42
4	Sarkomerenzahl pro Abweichungsstreifen = Zahlenreihe 2/3	4,1	4,45	9,9	8,5	11,45

Tab. 1. Vergleich der mittleren Höhe der kontrahierten Sarkomere mit der Höhe eines Abweichungsstreifens.

leuchtende Kern in eine Folge von Querstreifen (Abweichungsstreifen), die alternierend Additionsfarbe und Subtraktionsfarbe tragen. Dies spricht dafür, daß die optische Achse von Streifen zu Streifen alternierend nach rechts und links von der geometrischen Achse abweicht.

In Muskelfasern und anderen geordneten Aktomyosinsystemen repräsentiert die optische Achse die Richtung der untereinander parallelen Eiweiß-Stäbchen. Also scheinen die Ketten der Eiweiß-Stäbchen im Kern einer kontrahierten Modellfaser nicht mehr gestreckt, sondern geschlängelt zu verlaufen. Diese Deutung wird erhärtet, wenn man die Auslöschrichtung der einzelnen Streifen aufsucht, in die der Faserkern in der angegebenen Lage zerfällt. Es bestätigt sich, daß diese Auslöschrichtung (die Richtung der optischen Achse) abwechselnd nach rechts und links von der einheitlichen Auslöschrichtung des Mantels abweicht. Die Schlängelung ist in ihrem Ausmaß verschieden: stärker und schwächer gefaltete oder geschlängelte Bezirke folgen längs der Faserachse aufeinander.

III.

Die einzelnen Sarkomere sind zwar in der unkontrahierten Modellfaser, aber nicht mehr in der kontrahierten Modellfaser zu erkennen. Dies mag z. Tl. darauf beruhen, daß die A- und I-Banden durch die Kontraktion sehr schmal geworden sind ($A + I < 0,7\ \mu$), z. Tl. auf der gestörten Ordnung der Struktur, durch die die A- und I-Banden der einzelnen Fibrillen nicht mehr genau in der gleichen Höhe liegen. Infolgedessen wird die Höhe der kontrahierten Sarkomere aus dem Wert vor der Kontraktion berechnet.

⁵ A. Weber, Biochimica et Biophysica Acta 7, 214 [1951].

⁶ D. Noll u. H. H. Weber, Pflügers Arch. ges. Physiol. 235, 234–246 [1934].

	Drehung um die Faserachse		0°	90°	180°
I	Farbe der gemessenen Stelle mit Rot-I-Plättchen, wenn sich der Fasermantel in a) Additionslage befindet	Linke Hälfte des gemess. Streifens Rechte Hälfte des gemess. Streifens	rot-(violett) orange	gelb gelb	orange rot-(violett)
	b) Fasermantel in Auslöschrichtung durch Drehung aus der Additionslage um 45° im Sinne des Uhrzeigers		gelb	rot	blau
	Daraus Richtung der Abweichung der Eiweiß-Stäbchen von der Faserachse (positiv im Sinne des Uhrzeigers, negativ entgegen)	Linke Hälfte des gemess. Streifens Rechte Hälfte des gemess. Streifens	positiv positiv	~ 90° ~ 90°	negativ negativ
III	Winkel zwischen Auslöschrichtung und Faserachse, d. h. Winkel zwischen Eiweiß-Stäbchen und Faserachse	Linke Hälfte des gemess. Streifens	+ 31°	~ 90°	— 59°
		Rechte Hälfte des gemess. Streifens	+ 63°	~ 90°	— 32°

Tab. 2. Auslöschrichtungen (Richtungen der Eiweiß-Stäbchen) an derselben Stelle des Faserkernes bei Drehung der Faser um die Längsachse (und zwar um 90° und 180°).

Es ergibt sich, daß etwa 5—10 Sarkomere in einer Schicht einsinniger Achsenabweichung enthalten sind (Tab. 1, Reihe 4). Die bis hierher nachgewiesene Faltung oder Schlängelung erscheint also verhältnismäßig grob und regelmäßig.

Die Schlängelung erweist sich als sehr viel unregelmäßiger und komplizierter, wenn ein einzelner Streifen mit hoher Vergrößerung (nominell 800-fach, effektiv 640-fach) genau auf seine Auslöschrichtung analysiert wird. Dann erweist sich die Auslöschrichtung in verschiedenen Teilen — etwa in der rechten und linken Hälfte des Streifens — als deutlich verschieden (Abb. 1; Tab. 2, I und III). Außerdem nimmt die Abweichung der Teilchenrichtung von der Faserachse im allgemeinen an der Grenze zum Fasermantel deutlich ab. Besonders stark und unregelmäßig ändern sich Auslöschrichtung und Achsen der Eiweiß-Stäbchen in demselben Streifen, wenn die Modellfaser um ihre Längsachse gedreht wird, so daß man die Stäbchenbündel einmal gewissermaßen von oben, das andere Mal von der Seite und schließlich von unten sieht (Abb. 1). Die Verschiedenheiten sind so groß, daß es schwierig oder unmöglich wird, den Verlauf der Ketten von Eiweiß-Stäbchen räumlich dreidimensional richtig zu konstruieren.

Dreht man die Faser dagegen genau um 180° um ihre Längsachse und sorgt durch Markierung mit Kohlestäubchen dafür, daß vorher und nachher exakt dieselbe Stelle beobachtet wird, so findet man in Anfangs- und Endstellung eine ungefähr spiegelbildliche Symmetrie der Auslöschrichtungen, d. h. der Achsenrichtungen der Eiweiß-Teilchen (Tabelle 2, Spalte 0° und 180°).

Dieses ganze Bild, besonders aber die spiegelbildliche Symmetrie der Stäbchenrichtungen sichert es,

daß die Abnahme der positiven Doppelbrechung und der Umschlag in negative Doppelbrechung im Kern der kontrahierten Faser nicht auf einer Formänderung der Eiweiß-Stäbchen, sondern auf einer Richtungsänderung durch Faltung und Schlängelung der Ketten beruht. Wenn die Richtung der Eiweiß-Stäbchen von der geometrischen Faserachse gerade um 45° abweicht, so wird die Kerndoppelbrechung in der nor-

Abb. 1. Verlaufsrichtung der Eiweiß-Stäbchen in ein und demselben Abweichungsstreifen eines gestauchten Faserkernes bei Drehung um die Längsachse der Faser. Die obere und untere Begrenzung gibt die Richtung der Faserachse, die Schraffierung die Richtung der Eiweiß-Stäbchen. Die drei nebeneinander dargestellten Abweichungsstreifen sind in Wirklichkeit Bilder desselben Streifens, und zwar unter 0° in der Ausgangsstellung, unter 90° nach Drehung um einen rechten Winkel, unter 180° nach Drehung um zwei rechte Winkel. Die gemessenen Abweichungswinkel der Stäbchenachse von der Faserachse finden sich in Tab. 2.

malen Meßlage — d. h. unter 45° in Additionslage — Null; wenn die Richtung der Stäbchen mehr als 45° abweicht, wird die Kerndoppelbrechung in Additionslage negativ.

Die achsenparallele Anordnung der Eiweiß-Stäbchen bei der Kontraktion dünner Fasern und bei der Kontraktion des Mantels dicker Fasern steht im Gegensatz zu der Schlängelung der Eiweiß-Ketten im Kern dicker Fasern. Dieser Gegensatz legt den Gedanken nahe, es handle sich hier um eine Stauung des passiven Kernes durch den aktiv sich kon-

Doppelbrechung	Modell	Muskel	Modell	Muskel
Zustand	kontrahiert		unkontrahiert	
Eigendoppelbrechung	0,68	—	1,13	0,85 ¹⁰
Stäbchendoppelbr.	0,76	—	1,63	1,65 ¹⁰
Gesamtdoppelbr.	1,44	1,4 ¹¹	2,76	2,6 ¹⁰

Tab. 3. Vergleich der Doppelbrechung von intakten Muskelfasern und Modellfasern in gestrecktem und kontrahiertem Zustand.

trahierenden Mantel. Diese Ansicht gewinnt an Sicherheit, wenn berechnet wird, wie tief ATP bei der gegebenen Spaltungsrate in die Faser eindringen kann. Wird die auf anderem Weg bestimmte Diffusionskonstante des ATP im Gewebe der Modellfaser mit $30\text{--}40 \cdot 10^{-9}$ und die experimentell bestimmte Spaltungsrate in die Formel von Meyerhof eingesetzt, so berechnet sich tatsächlich eine Eindringtiefe $\sim 15 \mu$ — d. h. die Dicke der Mantelschicht⁷.

IV.

Infolgedessen kann nur die Doppelbrechung des Fasermantels oder — praktischer und einfacher — die Doppelbrechung von Modellfasern ohne Stauungskern zur Beurteilung der Strukturänderung bei aktiver Kontraktion herangezogen werden. Dann zeigt sich (Tab. 3), daß die Gesamtdoppelbrechung der Modellfaser in kontrahiertem und unkontrahiertem Zustand der Gesamtdoppelbrechung der kontrahierten und unkontrahierten lebenden Muskelfaser praktisch gleich ist. Das gleiche gilt für die Stäbchen- und Eigendoppelbrechung der unkontrahierten Modellfaser und der unkontrahierten intakten Muskelfaser (Tab. 3). Ebenso ist der Brechungsindex der Eiweiß-Stäbchen (n_1) für die intakte Muskelfaser ($n_1 = 1,57^6$), die Modellfaser ($n_1 = 1,56$) und auch den Aktomyosinfaden ($n_1 = 1,57^3$) praktisch gleich. Die Feinstruktur der Modellfaser scheint der Feinstruktur der intakten Muskelfaser also in allen Kontraktionszuständen gleich zu sein. Danach ist es berechtigt anzunehmen, daß auch die Verteilung der Doppelbrechung auf Eigen- und Stäbchendoppelbrechung für die kontrahierte Muskelfaser nicht anders ist als für die kontrahierte Modellfaser.

Kurve 1 auf der linken Seite der Abb. 2 zeigt, daß die Stäbchendoppelbrechung unkontrahierter Fasern von Faser zu Faser nur wenig streut. Größer ist da-

gegen die Streuung der Gesamtdoppelbrechung, weil die Eigendoppelbrechung (d. h. das Minimum der Gesamtdoppelbrechung) einigermaßen verschieden ist. Das Minimum der niedrigsten Doppelbrechungskurve (Kurve 2) liegt etwa 40% tiefer als das Minimum der

Abb. 2. Gesamtdoppelbrechung und Stäbchendoppelbrechung bei unkontrahierten Modellfasern: linke Seite, und kontrahierten Modellfasern: rechte Seite. Ordinate: Doppelbrechung $\times 10^3$; Abszisse: Brechungsindices der Imbibitionsflüssigkeiten. Linke Seite: Kurve 2 und 3 Maximal- und Minimalwerte der Gesamtdoppelbrechung von 6 Fasern ($\blacktriangle \bullet$ Versuchspunkte). Kurve 1 Stäbchendoppelbrechung der Fasern von Kurve 2 und 3 ($\triangle \nabla \circ$ Versuchspunkte). Rechte Seite: Kurve 2 Durchschnittswert der Gesamtdoppelbrechung von 4 Fasern nach Kontraktion um 66—77%. Kurve 1 Anteil der Stäbchendoppelbrechung. Kurve 3a negative Gesamtdoppelbrechung an einer „gestauchten“ Stelle (s. Text). Kurve 3 die dazugehörige Stäbchendoppelbrechung.

höchsten Kurve (Kurve 3; die dazwischen liegenden Doppelbrechungskurven 3 weiterer Fasern sind der Übersichtlichkeit wegen weggelassen). Diese Streuung dürfte wahrscheinlich darauf beruhen, daß es nicht immer gelingt, schwache Kontraktionen der Modellfaser beim Einbringen der lebenden Muskelfasern in die Extraktionsmischung aus Wasser und Glycerin zu vermeiden⁵.

⁷ W. Hasselbach, Deutsche Physiologentagung, August 1951, Mainz; noch nicht veröffentlicht.

¹⁰ E. Fischer, Ann. New York Acad. Sci. 47, 783 [1947].

¹¹ von Ebner, Pflügers Arch. ges. Physiol. 163, 179 [1916].

		Stäbchen- Doppelbrechung $\times 10^{-3}$									Eigen- doppel- brechg. $\times 10^{-3}$
	Imbibitionsflüssigkeit mit Brechungsindex n_2	Wasser	Alkohol	Alkohol-Anilin-Gemische			Anilin	Anilin + Brom- naphth.	Brom- naphth.	Brom- naphth. +Methy- lenjodid	
		1,33	1,36	1,45	1,55	1,56	1,58	1,61	1,65	1,68	
1	Unkontrahiert (3 Fasern)	1,63	1,02	0,28	0,07	0,00	0,15	0,44	0,98	1,20	1,13
2	Kontrahiert ungestaucht (4 Fasern)	—	0,54	0,23	0,00	0,05	0,12	0,30	1,20	1,37	0,68
3	Berechnet nach Wiener	4,9	3,7	1,12	0,01	0,00	0,03	0,20	0,62	1,08	—
4	St-Do gef. unkontr. St-Do berechnet	0,33	0,28	0,25	—	—	—	—	1,58	1,11	—
5	Kontrahiert gestaucht Faser I	—	0,16	0,03	0,01	0,02	0,11	0,24	0,60	0,86	0,29
	Faser II	—	—0,25	—0,10	0,00	0,00	—0,06	—	—0,35	—0,64	—0,25
	Mittelwert	—	—0,04	—0,03	0,00	+ 0,01	+ 0,02	—	+ 0,12	+ 0,11	+ 0,02

Tab. 4. Eigen- und Stäbchendoppelbrechung unkontrahierter und kontrahierter Modellfasern auf einem mittleren Eiweißgehalt von 15% umgerechnet*.

Denn die Mittelwertskurve der Doppelbrechung von vier ungestauchten kontrahierten Fasern (Abb. 2, rechte Seite, Kurve 2) zeigt, daß bei der Kontraktion vorzugsweise die Eigendoppelbrechung abnimmt. Sie sinkt bei einer Kontraktion um 66% bis 77% auf annähernd die Hälfte des unkontrahierten Betrages (Tab. 4, Reihe 2). Der Mittelwert der Stäbchendoppelbrechung dagegen ist bei unkontrahierter und kontrahierter Faser in allen Imbibitionsmitteln etwa gleich — außer in Alkohol (Tab. 4). Nun ist schon seit langem bekannt^{3, 6}, daß gerade in Alkohol die Stäbchendoppelbrechung hinter dem theoretischen Wert weit zurückbleibt. Dies beruht darauf, daß Alkohol nicht nur zwischen die Stäbchen, sondern auch in die Stäbchen eindringt. Es liegt infolgedessen nahe, die Abnahme der Stäbchendoppelbrechung in Alkohol als Folge einer Auflockerung der Stäbchen bei der Kontraktion und einer dadurch vergrößerten Alkoholaufnahme anzusehen. Die andere Möglichkeit — Absinken der Stäbchendoppelbrechung durch Verkürzung der Stäbchen — müßte sich in allen Imbibitionsflüssigkeiten bemerkbar machen.

Die Eigendoppelbrechung sinkt nicht nur scheinbar ab — etwa weil auch in anscheinend ungestauchten Fasern eine submikroskopische Stauchung stattfindet. Denn wenn die Stäbchenachse von der Faserachse auch nur auf submikroskopische Strecken abweicht, muß die Eigen- und Stäbchendoppelbrechung proportional abnehmen und gegebenenfalls sogar in propor-

tionalem Betrage negativ werden, falls die einzelnen Abweichungswinkel größer als 45° sind (vgl. Abschnitt III). Das ist an erkennbar gestauchten Stellen tatsächlich der Fall (Abb. 2, rechte Seite, Kurve 3 und 3a sowie Tab. 4, Reihe 5). Bei den ungestauchten Fasern aber fällt nur die Eigendoppelbrechung ab, während die Stäbchendoppelbrechung unverändert bleibt.

Es läßt sich also einigermassen sicher sagen, daß molekular-morphologisch die aktive Kontraktion und die passive Dehnung gleiche Vorgänge entgegengesetzter Richtung sind: Die im einzelnen Eiweiß-Stäbchen achsenparallel angeordneten Peptidketten gehen bei der Kontraktion aus einem mittleren in einen stark gefalteten Zustand über, während sie bei der Dehnung gestreckt werden. Das ist die Ursache der Änderung der Eigendoppelbrechung. Die Stäbchendoppelbrechung ändert sich nicht, weil die Stäbchen als Ganzes achsenparallel orientiert bleiben und weil ihre Länge auch in verkürztem Zustand immer noch so groß ist, daß sie den Voraussetzungen der Wienerschen Gleichung für Stäbchenmischkörper praktisch genügt.

Eine gewisse Stütze findet dieses Ergebnis in den elektronen-mikroskopischen Aufnahmen⁸. Die fein-

⁸ M. H. Draper u. A. J. Hodge, Austral. J. exp. Biol. med. Sci. 27, 465 [1949], sowie C. E. Hall, M. A. Jakus u. F. O. Schmitt, Biologic. Bull. 90, 32 [1946].

* Vgl. Methodik, Berechnungen.

		1	2	3	4	5
		Länge in mm	r in μ	Volumen in mm^3	Abnahme in % des Anfangswertes Länge	Volumen
Faser I	unkontrahiert	19	33	0,065	79	36
	kontrahiert	4	57,5	0,041		
Faser II	unkontrahiert	23	40	0,116	69,5	44,5
	kontrahiert	7	54	0,064		
Faser III	unkontrahiert	32	30	0,090	68,8	26
	kontrahiert	10	46	0,066		
Faser IV	unkontrahiert	17	24	0,030	73,5	50
	kontrahiert	4	33	0,015		

Tab. 5. Längen- und Querschnittsänderungen der Modellfaser bei der Kontraktion (7 Versuche).

sten elektronen-mikroskopisch noch auflösbaren Eiweißfilamente verlaufen in gedehntem, normalem und kontrahiertem Zustand immer gestreckt und der Faserachse parallel und werden nur als Ganzes länger oder kürzer.

Wie beim voll geordneten Aktomyosinfaden³ ist die Stäbchendoppelbrechung der Modellfaser in allen Imbibitionsflüssigkeiten mit einem Brechungsindex $n_2 > 1,56$ der nach Wiener berechneten theoretischen Stäbchendoppelbrechung praktisch gleich (Tab. 4, Reihe 4). Bei der intakten Faser des m. cutaneus des Frosches beträgt die gefundene Stäbchendoppelbrechung für $n_2 > 1,56$ nur etwa die Hälfte der berechneten Stäbchendoppelbrechung⁶. Das Verhalten der intakten Muskelfaser ist verständlicher als das der Modellfaser. Denn die Fasern enthalten im Gegensatz zum Aktomyosinfaden außer Aktomyosin auch noch andere Proteinstrukturen, die nicht doppelbrechend sind. Wenn auch der Betrag dieser anderen Eiweißkörper in der Modellfaser durch die Wasser-Glycerin-Extraktion vermindert ist, so sollte doch der verbliebene Rest an isotropen Proteinen die Doppelbrechung unter den theoretischen Betrag eines Wienerschen Mischkörpers senken.

Anhang

Bei der Kontraktion des lebenden Muskels muß das Volumen der Muskelfaser — abgesehen von einer minimalen Volumenstriktion — konstant bleiben, weil die Muskelfaser von einer intakten Membran umgeben ist. Bei der Herstellung der Modellfaser wird diese Membran weitgehend zerstört. Es zeigt sich, daß infolgedessen das Volumen nicht konstant bleibt: Die Querschnittszunahme ist bei hohen Graden der Verkürzung zwar beträchtlich, aber doch geringer als die Längenabnahme (Tab. 5, Spalte 1 u. 2). Infolgedessen beträgt das Volumen nach der Kontraktion

nur mehr gut die Hälfte des Volumens vorher (Tab. 5, Spalte 4).

Dieses Verhalten ist verständlich, wenn Muskelfaser und Modellfaser größere Mengen an chemisch nicht gebundenem Wasser enthalten. Die kontraktile Struktur der Modellfaser im Bad kann in diesem Fall vorgestellt werden wie ein System aus zwei Drahtnetzen, die durch eine große Zahl von parallelen Gummifäden miteinander verbunden sind. Das Volumen dieses Systems ist dann begrenzt durch die beiden Drahtnetze und die äußerste Schicht der Gummifäden. Wenn sich die Gummifäden eines solchen Systems in einem Wasserbad zusammenziehen, so wird das Volumen mit der Annäherung der beiden Drahtnetze aneinander kleiner, weil das Wasser zwischen den Gummifäden durch die Drahtnetze austreten kann. Umgibt man das System dagegen mit einer enganliegenden Gummihaut, so bleibt das Volumen bei der Kontraktion der Gummifäden konstant wie das Volumen der intakten Muskelfaser.

Methodik

Die Präparation der Modellfasern erfolgte nach A. Weber⁵.

Die Vorbereitung der Modellfasern für die polarisationsoptischen Untersuchungen: Für die quantitative Analyse der Doppelbrechung werden die Modellfasern nach H. H. Weber³ sowie Noll und Weber⁶ auf Glashaken befestigt. Das Aufkleben selbst wurde in einigen Versuchsreihen modifiziert. Die unkontrahierten Fasern werden nach Imbibition mit Glycerin aufgeklebt. Infolgedessen trocknen sie auch beim Aufkleben in Luft nicht aus. Es war deshalb möglich, als Klebstoff hochprozentige Gelatine anzuwenden, die von den organischen Lösungsmitteln nicht angegriffen wird, und diese Gelatinetropfen nach Eintrocknung mit einer Cellonlackschicht zu überziehen, die die Auflösung der Gelatine in Wasser verhindert. Nach Trocknung der Befestigungsstellen wird die Doppelbrechung in verdünnter Pufferlösung (s. unter Lösungen) gemessen. Dann wird die Messung in 5–10-proz. Formaldehydlösung wiederholt. Die Größe der Doppelbrechung ändert sich durch die Formaldehydeinwirkung nicht.

Die kontrahierten Fasern werden in kontrahiertem Zustand sofort durch Formaldehyd fixiert. Sie werden an-

schließend unter der Oberfläche der Formaldehydlösung mit einem Tropfen hochprozentiger Gelatine auf den Glashäken befestigt. Dann wird der Glashaken mit dem Präparat in Alkohol gebracht, um die Gelatine zu härten; die erste Messung der Doppelbrechung findet also erst in Alkohol statt.

Die Untersuchung der Auslöschwinkel und der Stauchungserscheinungen fand in einer flachen Metallwanne mit Glasboden statt, deren Wand an genau gegenüberliegenden Stellen durch zwei um ihre Achse drehbare Metallstifte durchbohrt ist. Ihre Spitzen stehen sich genau zentriert gegenüber. Die Drehung der beiden Metallstifte ist gekoppelt durch einen Bügel, der die Spitzen der beiden Stifte verbindet. Ein Rändelknopf an dem nach außen durchgeführten Teil eines Stiftes gestattet die gekoppelte Drehung beider Stifte um die gemeinsame Längsachse. Die Löcher, in denen die Stifte durch die Wand der Wanne geführt sind, sind durch Präzisionsarbeit und Ölung wasserdicht.

Die Modellfaser wird mit ihren Enden auf den beiden gegenüberliegenden Metallspitzen so befestigt, daß sie die gemeinsame Achse der beiden Stifte fortsetzt über die Lücke zwischen den beiden Spitzen hinweg. Die Modellfaser dreht sich also um ihre Längsachse, wenn die Stifte gedreht werden. Die kontrahierte, mit Formaldehyd fixierte Faser wird zunächst in Glycerin übertragen und dann auf die beiden Spitzen mit Cellonlack aufgeklebt.

Die Untersuchung der Auslöschrichtungen fand in verdünnter Pufferlösung (s. unter Lösungen) statt.

Die Kontraktion der Fasern: Damit sich die Fasern bei der Kontraktion nicht krümmen, werden sie mit den Enden auf zwei Celluloidplättchen befestigt, deren Abstand verändert werden kann. Bei der Kontraktion wird dieser Abstand so verringert, daß der Faden bei der Verkürzung gestreckt bleibt. Die Enden der Modellfaser werden mit Cellonlack befestigt.

Messungen: Die Faserbreite und -dicke wird nach H. H. Weber³ gemessen. Die Vergrößerung war 740-fach.

Die Messungen der Doppelbrechung geschahen mit Berek-Kompensator bei 740-facher Vergrößerung in Grünlicht von $\sim 533 \text{ m}\mu$. Lichtfilter⁹: In 100 ccm H_2O 60 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$; in 100 ccm H_2O 10 g Kaliummonochromat. Schichtdicke jeweils 20 mm. Niedervoltlampe.

Die Brechungsindices der Imbibitionsmittel wurden für die angegebene Wellenlänge laufend mit einem Abbé-Refraktometer kontrolliert.

Der Eiweißgehalt wurde als Trockenvolumen mikroskopisch bestimmt. Das Volumen der luftgetrockneten Faser wurde mit dem Volumen im Bad verglichen. Der Wassergehalt der luftgetrockneten Faser in Abhängigkeit vom Wasserdampfgehalt der Luft wurde den Eichkurven von H. H. Weber³ und Noll-Weber⁶ entnommen. Der Wasserdampfgehalt der Luft selbst wurde gleichzeitig mit der mikroskopischen Bestimmung des Trockenvolumens mit einem Taupunktshygrometer (Aspirationspsychrometer) bestimmt. Der Anteil des Eiweißes am Volumen der Modellfaser in verdünnter Pufferlösung beträgt im Mittel 15%.

⁹ E. Abderhalden, Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden 1928, Abt. II, S. 1218.

Berechnungen: Da die Fasern in den verschiedenen Imbibitionsmitteln in wechselndem Umfange quellen, wird die Doppelbrechung immer auf den Normalwert von 15% Eiweiß umgerechnet. Hierfür gilt:

1. Die Eigendoppelbrechung ist ceteris paribus der Eiweißkonzentration direkt proportional.

2. Die Formdoppelbrechung ist in erster Annäherung ceteris paribus proportional dem Produkt $v_1 \cdot v_2$. Hier bedeutet v_1 das Volumen der Eiweiß-Stäbchen, v_2 das Volumen der Zwischenräume. Wird nämlich in der Wienerschen Formel für Stäbchenmischkörper

$$n_a - n_0 = \frac{v_1 v_2 (n_1^2 - n_2^2)^2}{(n_a + n_0) [(1 + v_1) n_2^2 + v_2 n_1^2]}$$

in erster Annäherung $n_a + n_0$ durch $2 n_m$ und n_1^2 und n_2^2 im Nenner durch n_m^2 ersetzt, so nimmt sie die Form an

$$n_a - n_0 = v_1 v_2 \frac{(n_1^2 - n_2^2)^2}{4 n_m^3}$$

In dieser Formel ist $n_m = v_1 \cdot n_1 + v_2 \cdot n_2$.

Der Fehler der Annäherung gegenüber der korrekten Wienerschen Formel beträgt für das Imbibitionsmittel Alkohol zwischen 1% und 2%, für Monobromnaphthalin weniger als 1%, wenn das Doppelbrechungsminimum bei 1,56 liegt.

Chemikalien und Lösungen

Die Glycerinmischungen wurden aus wäßrigem Phosphatpuffer und Glycerinum bidestillatum p. a. 1,23 Merck gemischt. Unter Berücksichtigung des Wassergehaltes des Merckschen Glycerins betrug der Glyceringehalt an Volumenprozent

1. für die Extraktionsmischung 30%,
2. für die Mischung, in der die Präparate aufbewahrt wurden und mit der sie zum Aufkleben durchtränkt wurden, 87%*,
3. für die Mischung, in der die dünnen Faserbündel in Einzelfasern zerlegt wurden, 18%.

Die Pufferkonzentrationen wurden so gewählt, daß die Phosphatkonzentration in allen Glycerinmischungen und in wäßriger Lösung $1 \cdot 10^{-2} \text{ -m.}$ und das $p_H \sim 7$ betrug. In den verdünnten Glycerinlösungen und in der wäßrigen Lösung verhielt sich $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4$ wie 1:1, in der konzentrierten Glycerinmischung wie 1:1,6. Die wäßrige Pufferlösung enthielt außerdem $m/1000 \text{ MgCl}_2$.

Die Adenosintriphosphat-Konzentration war bei der Kontraktion der Fasern für die Doppelbrechungsanalyse $\sim 5 \cdot 10^{-3} \text{ -m.}$, für die Stauchungsuntersuchungen $\sim 8 \cdot 10^{-3} \text{ -m.}$; Formaldehyd und Imbibitionsmittel waren Mercksche Präparate p. a., nur der Äthylalkohol stammte von Schweickhart, Tübingen.

Herrn Professor H. H. Weber bin ich für die Anregung zur Arbeit und die Hilfe bei ihrer Durchführung zu großem Dank verpflichtet.

* Das gleiche gilt für die Publikation von A. Weber⁵, in der die Konzentration versehentlich mit 96% angegeben ist.