

Biolumineszenz – Enzym-Reaktion mit Krebschen aus der japanischen See Leuchtkrebschen *Cypridina hilgendorfii*

Allgemeine Einführung:

Zu den Organismen, die zur Biolumineszenz befähigt sind, gehören Vertreter der verschiedensten systematischen Gruppen wie beispielsweise Bakterien, Flagellaten, Radiolarien, Schwämme, Hohltiere, Krebse, Weichtiere, Insekten, Fische usw.

1. **Intrazelluläre Lumineszenz:** das Licht wird in den Körperzellen selbst (z.B. in sog. „Leuchtzellen“) erzeugt. Reflektierende und filternde Schichten (z.B. Guaninplättchen) können Farbe, Richtung und Intensität des Leuchtens beeinflussen.
2. **Extrazelluläre Lumineszenz:** Die Komponenten Luziferin und Luziferase werden in Drüsenzellen getrennt erzeugt. Gelangen diese Stoffe ins umgebende Wasser, so reagieren sie und es entsteht eine „Leuchtwolke“. Neben einigen Tintenfischarten besitzen insbesondere viele Krebse diese Form der Biolumineszenz.
3. **Symbiose mit Leuchtbakterien:** Viele Meeresbewohner besitzen Hohlorgane, in denen sie Leuchtbakterien beherbergen, welche ihrerseits zur Biolumineszenz befähigt sind. Durch ein Abschirmen dieser „Leuchten“ ist es vielfach möglich, die Lichtquelle „abzuschalten“. Solche Leuchtorgane findet man z.B. bei Fischen, Stachelhäutern, Weichtieren, Würmern und Hohltieren.

Die Biolumineszenz ist auf einen chemischen Prozess zurückzuführen, der auf der Oxidation bestimmter Leuchtstoffe, sog. Luziferine, beruht. Der größte Teil der bei dieser Reaktion freigesetzten Energie tritt als Licht in Erscheinung. Die dabei mitwirkenden Enzyme werden als Luziferasen bezeichnet.

Luziferin ist ein Sammelbegriff für recht verschiedenartige chemische Substanzen. Auch die unter dem Namen „Luziferase“ zusammengefassten Enzyme besitzen unterschiedliche chemische Strukturen.

Der Leuchtkrebs *Cypridina hilgendorfii*. Es handelt sich um ein Kleinkrebschen. Es kommt in der japanischen See vor. Seine Körpergröße variiert zwischen 0,5 und 4 mm. Das Tierchen besitzt eine zweiklappige Schale, die den übrigen Körper umschließt. Selbst an Trockenmaterial kann man bei mäßiger Vergrößerung die wesentlichen Krebsmerkmale erkennen (Lupe oder besser Binokular). Der Leuchteffekt der Krebschen wurde während des zweiten Weltkrieges für kurzfristige Leuchtvorgänge im Dschungel benutzt.

Das gefriergetrocknete Material ist lange haltbar wenn es trocken gelagert wird. Deshalb erfolgt die Aufbewahrung über einem Trocknungsmittel (Silicagel). Angebrochene Packungen sollten stets wieder dicht verschlossen werden.

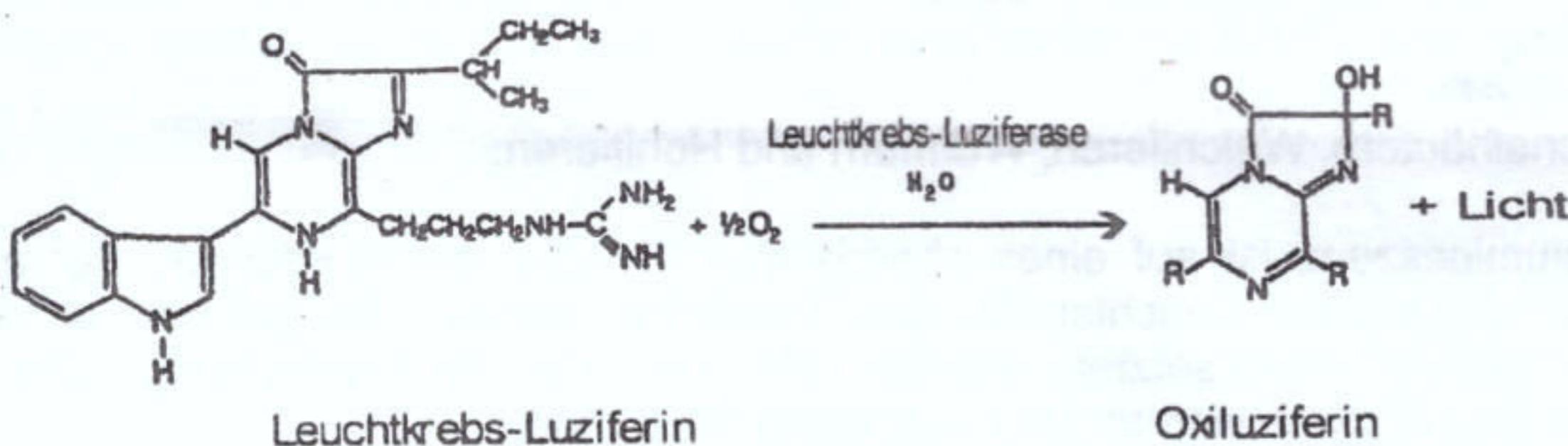
Grundversuch:

- Nur ca. 10 - 15 trockene Krebschen, die Sie in einer Reibeschale pulverisieren, werden für einen Versuch benötigt.
- Pulver auf ein großes Uhrglas oder in ein Reagenzglas geben. Dazu benutzt man einen trockenen Pinsel, um Verluste des Pulvers zu vermeiden. Das Pulver kann auch in der Reibeschale belassen werden. Das Leuchten ist dann aber nur in der Aufsicht zu beobachten.
- Etwas Wasser in einem Becher bereithalten.

Raum abdunkeln

- Das Pulver mit dem Wasser aufschwemmen. Ein intensiv blaues Leuchten ist zu sehen, welches allmählich abklingt bis es schließlich verlöscht.

Reaktionsablauf:



Nach dem Abklingen der Lichterscheinung leert man den Versuchsansatz nicht weg, sondern verwendet ihn für das nachfolgende Experiment.

Bitte beachten: Alle Wiederholungsversuche mit den Trocken-Krebschen setzen voraus, dass die benutzten Gefäße absolut trocken sein müssen.

Nachweis der Hitzestabilität des Luziferins

Luziferase ist ein Eiweißstoff, der durch Hitze denaturiert und damit unwirksam wird. Luziferin dagegen wird durch Kochen nicht zerstört.

Durchführung des Versuchs:

- Ca. 10 - 15 Leuchtkrebschen in ein Reagenzglas geben und etwa 1 ml Wasser hinzufügen.
- Reagenzglas für einige Minuten in ein kochendes Wasserbad tauchen.
- Nach dem Abkühlen werden die Krebschen im Reagenzglas mit einem Glasstab sorgfältig zerrieben. Ein Aufleuchten ist dabei aber nicht zu erkennen, denn die Hitze hat das Enzym Luziferase zerstört.
- Den Reagenzglasinhalt zum „erschöpften“ Ansatz des Grundversuchs (s.o.) dazugeben. Es tritt wieder eine Leuchterscheinung auf, wenn auch in verminderter Stärke.

Erklärung: Der erschöpfte Ansatz des Grundversuchs enthält kein Luziferin mehr, da dieses oxidiert wurde. Luziferase jedoch ist noch vorhanden; es wurde nicht verbraucht. Im gekochten Krebschen-Extrakt ist zwar die Luziferase zerstört worden, das Luziferin dagegen (kein Eiweiß!) blieb unverändert.

Giftwirkung von Schwermetall-Ionen

Es wird so verfahren wie beim Grundversuch, man löst jedoch zuvor einige Kristalle einer Schwermetallverbindung (z.B. Kupfer (II)-sulfat, Quecksilber (II)-chlorid) usw. im Wasser auf. Im weiteren Versuchsablauf unterbleibt das Leuchten.

Erklärung: Schwermetall-Ionen machen Luziferase unwirksam.

Abhängigkeit der Wirksamkeit der Luziferase vom pH-Wert

Der Grundversuch kann variiert werden, in dem das Krebspulver mit stark oder alkalisch reagierendem Wasser versetzt wird, (zum Wasser 1 Tropfen Natronlauge geben). In beiden Fällen ist keine oder allenfalls eine nur sehr schwache Lichterscheinung zu beobachten.

Erklärung: Das Enzym Luziferase ist im stark sauren bzw. alkalischen Bereich nicht oder kaum noch wirksam.



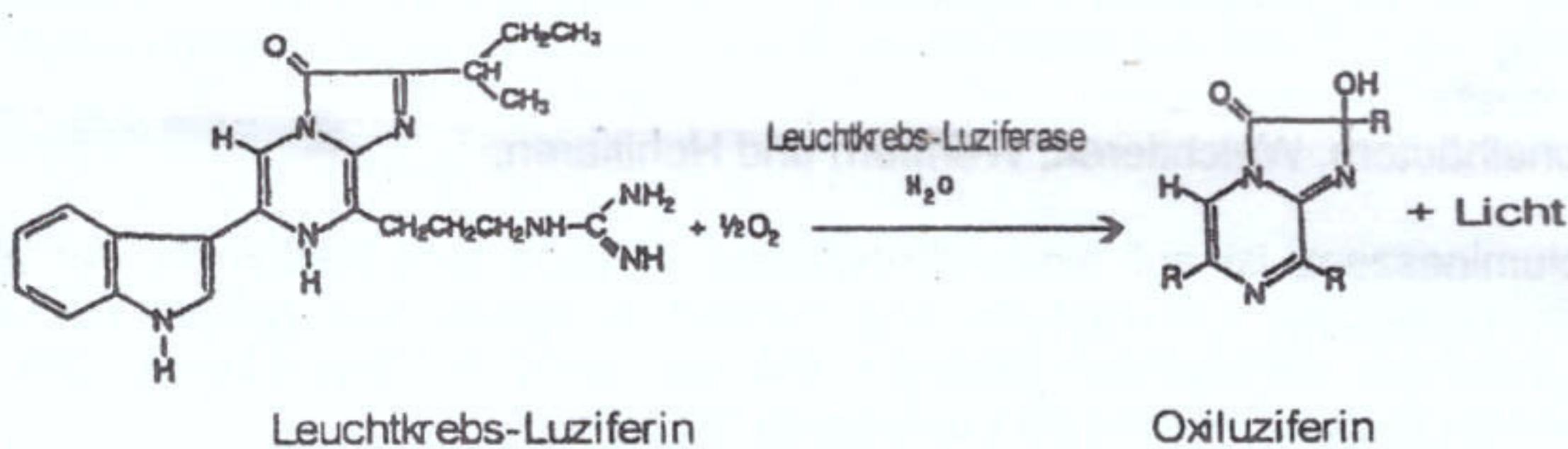
Grundversuch:

- Nur ca. 10 - 15 trockene Krebschen, die Sie in einer Reibeschale pulverisieren, werden für einen Versuch benötigt.
- Pulver auf ein großes Uhrglas oder in ein Reagenzglas geben. Dazu benutzt man einen trockenen Pinsel, um Verluste des Pulvers zu vermeiden. Das Pulver kann auch in der Reibeschale belassen werden. Das Leuchten ist dann aber nur in der Aufsicht zu beobachten.
- Etwas Wasser in einem Becher bereithalten.

Raum abdunkeln

- Das Pulver mit dem Wasser aufschwemmen. Ein intensiv blaues Leuchten ist zu sehen, welches allmählich abklingt bis es schließlich verlöscht.

Reaktionsablauf:



Nach dem Abklingen der Lichterscheinung leert man den Versuchsansatz nicht weg, sondern verwendet ihn für das nachfolgende Experiment.

Bitte beachten: Alle Wiederholungsversuche mit den Trocken-Krebschen setzen voraus, dass die benutzten Gefäße absolut trocken sein müssen.

Nachweis der Hitzestabilität des Luziferins

Luziferase ist ein Eiweißstoff, der durch Hitze denaturiert und damit unwirksam wird. Luziferin dagegen wird durch Kochen nicht zerstört.