

Über die Bedeutung der Phosphate für die alkoholische Gärung.

Von Prof. Dr. ARTHUR HARDEN, London.
Nobel-Vortrag¹⁾, Stockholm, 12. Dezember 1929.

(Eingeg. 16. Januar 1930)

Die Entdeckung, daß Phosphate eine bemerkenswerte Rolle bei der alkoholischen Gärung spielen, ging aus einem Versuch des verstorbenen Dr. Allan Macfarlane hervor, durch Injektion von Buchner-schem Hefe-Presssaft bei Tieren eine Antizymase zu erzeugen. Als notwendige Vorbedingung für diese Untersuchung wurde die Wirkung des Serums so vorbehandelter Tiere auf die zellfreie alkoholische Gärung geprüft. Dabei ergab sich ein zweifacher Effekt. In Gegenwart des Immunserums wurden die proteolytischen Enzyme des Hefensaftes stark behindert, und gleichzeitig wurden sowohl die Geschwindigkeit wie der Umfang der Gärung erheblich gesteigert. Beim Versuch zur Klärung der Erscheinung, die auf einen Schutz der Zymase durch die Serum-Antiprotease bezogen wurde, ist auch die Wirksamkeit gekochten autolysierten Hefensaftes geprüft worden, in der Annahme, daß die Gegenwart proteolytischer Produkte eine antiproteolytische Wirkung entfalten möchte. Indem mein damaliger Mitarbeiter Dr. Young und ich glücklicherweise an Stelle der von Buchner zumeist benutzten gravimetrischen Methode ein volumetrisches Verfahren anwandten, das fast ununterbrochene Beobachtungen ermöglichte, wurden wir dadurch überrascht, daß eine große aber zeitweise Beschleunigung der Gärgeschwindigkeit und eine Zunahme der entwickelten Kohlensäure eintrat, die der Menge des gekochten Saftes proportional war. Dies wurde auf die Gegenwart zweier voneinander unabhängiger Faktoren zurückgeführt, eines thermostabilen dialysablen Coenzymes, das Euler jetzt Cozymase nennt, und auf anorganisches Phosphat. Bezüglich der Phosphate zeigten weitere Experimente, daß für jede durch Hefenpräparate bewirkte Gärung die Gegenwart von Phosphat durchaus unentbehrlich ist.

Läßt man die Frage nach dem Verhalten lebender Zellen zunächst außer Acht, so kann man für Hefezubereitungen drei verschiedene Typen der Gärung aufstellen (siehe Kurve 1, 2 und 3, Abb. 1).

1. Es findet eine verhältnismäßig schnelle Gärung statt (Kurve 1, Abb. 1), bei der Zucker in Kohlendioxid und Alkohol gespalten und gleichzeitig anorganisches Phosphat in einen oder mehrere sich anhäufende Zuckerester verwandelt wird. Wenn der Vorrat an anorganischem Phosphat erschöpft ist, sinkt die Gärgeschwindigkeit; die Anhäufung von Ester hört natürlich auf, und die Gärung nimmt den Typus 2 an.

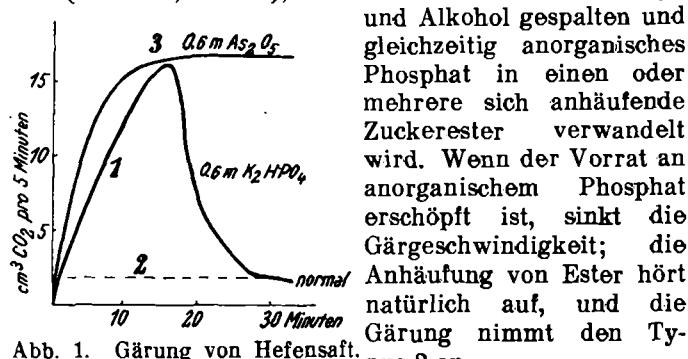


Abb. 1. Gärung von Hefensaft.

2. Es findet eine verhältnismäßig langsame Gärung (Kurve 2, Abb. 1) statt, bei der die Schnelligkeit der Gärung begrenzt ist durch die Geschwindigkeit, mit der

¹⁾ Aus dem Englischen übersetzt von Dr. Kobel.

anorganisches Phosphat infolge Hydrolyse der anwesenden Phosphorsäureester durch die gleichfalls vorhandene Phosphatase geliefert wird. Dieses anorganische Phosphat wird abwechselnd in einen Zucker-Phosphorsäure-Ester verwandelt und wieder durch Hydrolyse in Freiheit gesetzt; dabei verläuft die Gärung gleichmäßig, solange Zucker zur Verfügung steht, ohne irgend eine permanente Zunahme der Mengen des anorganischen Phosphates oder des Phosphorsäureesters. Dies ist der Gärtypus, den man durch Zugabe von Zucker zu einem aktiven Hefenpräparat erhält, wenn der Prozeß so lange fortgeschritten ist, daß sich eine konstante Geschwindigkeit eingestellt hat. In einigen Fällen, die abhängig sind von der Menge der ursprünglich vorhandenen Phosphatase, steigt die Gärgeschwindigkeit bis zu einem gewissen Maße, wenn mehr Zucker-Phosphorsäure-Ester zugefügt oder gebildet wird²⁾, doch erreicht diese Erscheinung bald ihr Ende. Wenn anorganisches Phosphat zugefügt wird, geht die Gärung in den Typus Nr. 1 über.

Wenn es an Zucker mangelt, tritt anorganisches Phosphat auf, und schließlich wird — unter günstigen Bedingungen — aller Zucker-Phosphorsäure-Ester hydrolysiert, der Zucker vergoren und das gesamte gebundene Phosphat in anorganischer Form frei.

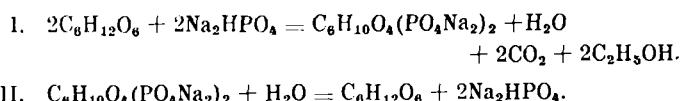
3. Wenn nun zu einem Gärgemisch vom Typus 2 so viel überschüssige Phosphatase zugefügt wird, daß sie den Zucker-Phosphorsäure-Ester hydrolysiert und so die Menge des zur Verfügung stehenden anorganischen Phosphats vermehren kann³⁾, so steigt die Gärgeschwindigkeit ebenfalls. Wenn so viel aktive Phosphatase zugegeben werden konnte, daß die Zuckerphosphorsäure ebenso schnell zerfällt wie sie gebildet wurde, so stellte sich eine schnellere Vergärung ein ohne Anhäufung von Zucker-Phosphorsäure-Ester. Dies ist noch nicht unmittelbar durchgeführt worden, aber eine mittelbare Methode zur Erreichung dieses Ziels besitzt man insofern, als sich herausstellte, daß Arsenate die Wirkung der Phosphatase stark anregen. Diese Beobachtung ist in Wirklichkeit der unverdiente Lohn der chemischen Betrachtung eines biochemischen Problems. Bei vielen chemischen Vorgängen ist der Typus der in Betracht kommenden Verbindung der hauptsächlichste Faktor, arsensaure Salze können wie phosphorsaure reagieren, Kalium kann durch Natrium ersetzt werden, Eisen durch Nickel oder Kobalt. In biochemischer Hinsicht kann ein Unterschied zwischen Kalium und Natrium den Unterschied zwischen Leben und Tod bedeuten und wenn Eisen nicht für den Blutfarbstoff benutzt wird, so wird er in der Natur nicht durch Nickel oder Kobalt, sondern durch Kupfer oder Vanadin ersetzt. So spielen Arsenate bei der Vergärung nicht die Rolle wie Phosphate, sondern wirken auf ganz andere Art. Wenn man eine passende Menge Arsenat zufügt, so findet (Kurve 3,

²⁾ Siehe Boyland, Biochemical Journ. 23, 219 [1929].

³⁾ Unveröffentlichte Ergebnisse von Harden und Macfarlane.

Abb. 1) eine schnelle Vergärung statt, die vergleichbar ist der Schnelligkeit beim Typus 1, sich aber von ihr dadurch unterscheidet, daß die Schnelligkeit konstant bleibt, und daß keine Anhäufung von Zuckerphosphat eintritt. Unter optimalen Bedingungen verursacht die Zufuhr von anorganischen Phosphaten keine beinnerkenswerte Steigerung der Gärgeschwindigkeit, da diese unter solchen Umständen von der Konzentration des Fermentkomplexes, Enzym und Coenzym, abhängt. Andererseits erhöhen Arsenate nicht die Schnelligkeit beim Gärtypus 1, da die Menge des anorganischen Phosphats bereits optimal ist.

Ohne eine bestimmte Annahme über die genaue Natur des gebildeten Hexose-Phosphorsäure-Esters zu machen, können die angegebenen Veränderungen durch zwei Gleichungen wiedergegeben werden, die ursprünglich von Harden und Young für den Fall angenommen wurden, daß nur Hexosediphosphat gebildet wird; die erste Gleichung drückt die Entwicklung von Kohlendioxyd und Alkohol bei gleichzeitiger Anhäufung von Ester aus, und die zweite Gleichung veranschaulicht die Spaltung des Esters unter Freiwerden von Zucker und anorganischem Phosphat.



Gleichung I gibt die Bedingungen der Vorgänge von Typus 1 wieder, Gleichung II vom Typus 2. In Gegenwart von Arsenat erfolgt die Hydrolyse des Hexosephosphats gemäß der Gleichung II schnell genug, um Phosphat zu liefern, so daß die Gleichung I mit maximaler Geschwindigkeit abläuft.

Gärung mit lebender Hefe.

Es ist ein auffallendes Kennzeichen der Gärung durch Hefepräparate, daß sie viel langsamer fortschreitet als die Gärung vermittels einer entsprechenden Menge lebender Hefe. So vergärt der Buchner'sche Hefesaft mit nur etwa $1/20$ bis $1/40$ der Geschwindigkeit wie die Hefe, aus der er bereitet ist.

Die Tatsache, daß die Gärgeschwindigkeit eines solchen Saftes unter günstigen Umständen etwa 10- bis 20 mal erhöht werden kann, einfach durch Vermehrung der Phosphatmenge, scheint mir klar darauf hinzudeuten, daß ein großer Anteil, wenigstens die Hälfte, des Zymasekomplexes der Hefe bei der Bereitung ungeschädigt in den Saft übergegangen ist, daß aber der Mechanismus zur Bildung von anorganischem Phosphat weitgehend zerstört worden ist. Weder Arsenat noch Phosphat wirken beschleunigend auf die Gärgeschwindigkeit lebender Hefe. Das kann daher röhren, daß die Menge anorganischen Phosphats im Inneren der Hefezelle bereits optimal ist; aber es unterliegt einem gewissen Zweifel, ob diese Salze die Zellwände durchdringen oder nicht. Wenn es jedoch, wie mir wahrscheinlich vorkommt, wahr ist, daß bei Präparaten von Hefesaft usw. der Phosphat bildende Mechanismus gelitten hat, so bleibt zu erforschen, wodurch dies geschehen ist.

Einige Möglichkeiten liegen auf der Hand. Wie von Euler und seinen Mitarbeitern im Falle des Zymasekomplexes angenommen wird, soll vielleicht die Phosphatase größtenteils an Cytoplasma gebunden sein und unwirksam werden, wenn die Zelle abgetötet wird. Eine andere Möglichkeit ist die, daß die Wirkung in der Zelle lokalisiert ist und daß die Zerstörung der Zelle zu weniger günstigen Bedingungen (z. B. Konzentration, Gegenwart von Hemmungs-

faktoren usw.) und zu einer geringeren Aktionsgeschwindigkeit führt. Das ist wahrscheinlich, da die Mengen der vorhandenen Phosphatase, so weit man nach der normalen Vergärung (Typus 2) urteilen kann, sich in dem Maße zu vermindern scheint, wie die Zerstörung der Zelle eine vollkommenere wird. So vergären Trockenhefe und Acetonhefe Zucker (Typus 2) schneller als Hefesaft, obgleich sie alle bei reicher Phosphatzufuhr dieselbe Gärgeschwindigkeit veranlassen. Wiederum kann eine labile Substanz, die beschleunigend auf die Phosphatase wirkt, durch die verschiedene Behandlungsweise inaktiviert werden (Zerreiben, Trocknen, Behandlung mit Toluol oder Aceton usw.), der die Zelle ausgesetzt ist. Buchner benutzte wahrscheinlich denjenigen Prozeß, der am wenigsten geeignet schien, eine beschleunigende Substanz zu inaktivieren, aber es ist auch möglich, daß eine solche Substanz, wenn sie vorhanden war, durch die große Menge benutzter Kieselgur adsorbiert und dadurch aus dem Saft entfernt wurde.

Miss Macfarlane hat kürzlich in meinem Laboratorium noch unveröffentlichte Versuche gemacht, um festzustellen, in welchem Stadium des Prozesses die Veränderung eintritt, und ob durch Modifikation des Zerreibungsprozesses ein an Phosphatase reicherer Saft erhalten wird. Es scheint jedoch, daß das einfache Zerreiben mit Sand eine Veränderung von demselben Grade hervorruft, wie sie im Buchner'schen Saft beobachtet wird. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß das Gemisch von Sand und Hefemehrere Male verrieben, und die Gärgeschwindigkeit und das Verhalten gegenüber zugesetztem Phosphat von Zeit zu Zeit in der gesamten nicht ausgepreßten Masse bestimmt wurde (Abb. 2). Diese Kurven zeigen die Gärgeschwindigkeit von 2 g Hefe + 2 g Sand in 20 cm³ 10%iger Fructose bei 30°, a) ohne Zerreiben, b) nach 20minütigem Zerreiben und c) nach 60 minütigem Verreiben. An dem durch einen Pfeil gekennzeichneten Punkt wurden 0,6 cm³ 2-n-K₂HPO₄-Lösung zugefügt.

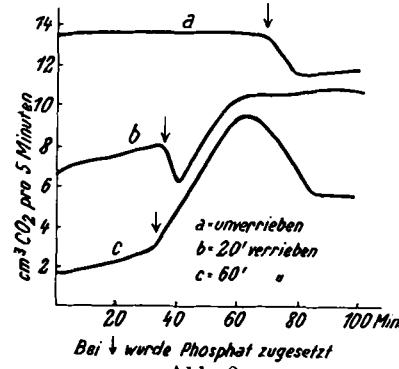


Abb. 2.
Gärung von Hefe-Sandgemisch.
Bei ↓ wurde Phosphat zugesetzt

Die Kurven zeigen, daß die Gärgeschwindigkeit mit der Zeitdauer des Verreibens abnahm und die Wirkung zugefügten Phosphats um so größer wurde. Der Totalverlust der Gärkraft war hier wieder nur gering.

Kleinere Unterschiede wurden beobachtet, wenn die von Buchner verwendete Kieselgur durch andere Substanzen ersetzt wurde; der aktivste Saft wurde z. B. erhalten bei Verwendung von Calciumcarbonat, während Bariumcarbonat ein vollkommen inaktives Material lieferte. Weitere Untersuchungen werden vielleicht eine Klärung dieser Frage bringen können.

Vorläufig bin ich von der Voraussetzung aus gegangen, daß die Vorgänge, die sich in der lebenden Zelle abspielen, im wesentlichen die gleichen sind wie in den verschiedenen Zubereitungen toter Zellen, sich aber von diesen hauptsächlich in der relativen Intensität einiger Reaktionen unterscheiden, und ich kenne kein stichhaltiges Argument gegen diese Annahme.

Der Kreislauf des Phosphats in der Reihe der Umsetzungen der gewöhnlichen Gärung besteht ganz deutlich in der abwechselnden Bildung eines Phosphorsäure-Esters und seiner Hydrolyse unter Bildung freier Phosphorsäure. Eine einfache Berechnung, der der Phosphatgehalt der lebenden Hefe zugrunde gelegt ist, zeigt, daß das gesamte Phosphat alle 5—6 Minuten die Stufe des Phosphorsäure-Esters durchlaufen muß, damit die normale Gärgeschwindigkeit erhalten bleibt, während beim Hefensaft der ebenso berechnete Kreislauf durchschnittlich fast zwei Stunden dauern würde.

Natur und Funktion der gebildeten Phosphorsäure-Ester.

Betrachten wir nun weiter die Natur dieser Phosphorsäure-Ester und das Verhältnis ihrer Bildung und Hydrolyse zur Zersetzung des Zuckermoleküls, so stoßen wir auf äußerst komplizierte Vorgänge, die noch nicht befriedigend erklärt werden können.

In der Hauptsache scheint folgendes zu sein: Wenn die Gärung des Zuckers durch Hefepräparate unter geeigneten Bedingungen in Gegenwart von zugefügtem anorganischen Phosphat vorgenommen wird, so findet eine schnelle Bildung von Kohlendioxyd und Alkohol statt und ein Zucker-Phosphorsäure-Ester häuft sich an. Der Phosphatgehalt, den man in dieser Verbindung findet, ist annähernd proportional im Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{PO}_4$ der vermehrten CO_2 - und Alkoholbildung, die durch Zugabe von Phosphat verursacht wurde. Kluyver und Struyk haben zwar niedrigere Verhältniszahlen gefunden, aber es besteht kein Zweifel, daß die hohen Quotienten 0,8—1 oft beobachtet worden sind.

Der gebildete Phosphorsäure-Ester jedoch dürfte hauptsächlich aus Hexose-di-phosphat, das zuerst von Young und mir beschrieben worden ist, oder aus Hexose-mono-phosphat bestehen, über das Robison und ich berichtet haben, und das später von Robison näher untersucht worden ist, oder es kann ein beliebiges Gemisch dieser beiden Ester sein. Im Falle der Gärung von Trockenhefe (und möglicherweise auch anderer Präparate) ist eine weitere Komplikation dadurch gegeben, daß auch ein Disaccharid-Phosphorsäure-Ester (Trehalose-mono-phosphat) zugegen sein kann.

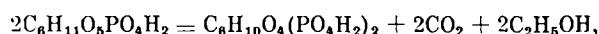
Dieser Schluß beruht hauptsächlich auf der großen Erfahrung, die bei der Darstellung von Hexose-mono- und Hexose-di-phosphat im Lister Institute gewonnen worden ist. In der Regel wurde diese Präparate in der Weise dargestellt, daß zu dem Gärungsmisch von Hefensaft oder Trockenhefe und Fructose oder Glucose wiederholt Phosphat und Zucker zugefügt wurden. Mit Trockenhefe erhält man gewöhnlich hauptsächlich Diphosphat, und die relativ kleine Menge des gebildeten Monophosphats enthält einen beträchtlichen Anteil Trehalose-mono-phosphat. Mit Hefensaft sind die Resultate sehr schwankend, und es ist bis jetzt noch kein Trehalose-mono-phosphat gefaßt worden. Lord Henley und ich haben exaktere Versuche gemacht, bei denen die gebildete Gasmenge nach einer einzigen Phosphatzugabe sorgfältig gemessen und das Verhältnis des gebildeten Mono- und Diphosphats so genau als möglich bestimmt wurde. Leider sind die zur Verfügung stehenden Methoden nicht sehr gut, da sie auf der Löslichkeit der verschiedenen Verbindungen in 10%igem Alkohol beruhen und diese bis zum gewissen Grade von dem Vorhandensein beider Verbindungen abhängig ist. Außerdem kommt von der Hefe, wie aus Afrika, immer etwas Neues, und die jüngst entdeckte Tatsache, daß Pyro-

phosphate in der Hefe existieren und daß ihre Bildung aus Orthophosphat oder ihre Hydrolyse zu diesem das Verschwinden oder Auftreten anorganischen Phosphats verursachen kann, fügt eine neue Quelle der Ungenauigkeit zu den vielen schon bekannten.

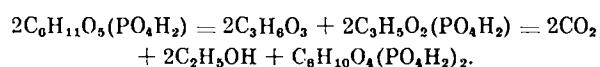
Natürlich muß man die Phosphorverbindungen berücksichtigen, die in dem Moment in dem Gemisch vorhanden sind, wo anorganisches Phosphat zugefügt wird, und die normale Kohlendioxydbildung, die während der ganzen Versuchszeit erfolgt — außer einer erhöhten, auf die Veresterung zurückgehenden Kohlendioxyd-entwicklung.

Trotz dieser geringen Unsicherheiten überrascht es, daß, wie auch immer die Natur der gebildeten Phosphorsäure-ester sein möge, die Kohlensäuremenge im Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{PO}_4$ annähernd der veresterten Menge Phosphat äquivalent ist. Die ausführlichen Resultate sind kürzlich in zwei Mitteilungen von Lord Henley und mir in dem „Biochemical Journal“ veröffentlicht worden und brauchen hier nicht in den Einzelheiten erörtert zu werden. Diese Versuche zeigen die große Variationsmöglichkeit, die bezüglich der Natur der gebildeten Hexosephosphate besteht, während das Verhältnis CO_2 zu verestertem PO_4 konstant bleibt und annähernd eins ist. Zwei extreme Fälle seien angeführt, in denen einem 13,5% des veresterten Phosphats als Hexose-di-phosphat zugegen waren und 86,5% als Monophosphat, in dem anderen 97% Di-phosphat und nur 3% Mono-phosphat. Das Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{verestertem PO}_4$ war 0,98 bzw. 0,86.

Ich möchte nicht vorschlagen, die verschiedenen Theorien zur Erklärung dieser komplizierten Beziehungen im einzelnen zu erörtern. Offensichtlich kann man annehmen, daß die Einführung der Phosphorsäuregruppe in das Zuckermolekül unter Bildung eines Hexose-mono-phosphats dieses einer Spaltung in einen oder mehrere 3-Kohlenstoffkörper zugänglich macht, die jetzt als Zwischenprodukte bei der Bildung von CO_2 und Alkohol angenommen werden. Das Phosphatradikal aus einem Molekül Ester kann dann dazu dienen, ein anderes Molekül Monophosphat in das Diphosphat überzuführen (Meyerhoff),



oder es können sich zwei von diesen 3-Kohlenstoffkörpern, von denen jeder eine Phosphorsäuregruppe enthält, untereinander vereinigen und so stabiles Diphosphat bilden (Kluyver und Struyk):



Das Monophosphat, das dieser Reaktion entgeht, würde dann als ein Bestandteil des Zucker-phosphorsäure-ester-gemisches wiedergefunden werden, das durch die Gärung entstanden ist.

Als weitere Schwierigkeit bei der Klärung dieser verwickelten Frage muß man sich vor Augen halten, daß sowohl bei Vergärung von Glucose als von Fructose das gebildete Hexose-di-phosphat wahrscheinlich ein Derivat der Fructose ist oder wenigstens bei der Hydrolyse Fructose liefert, während das Mono-phosphat ebenso wahrscheinlich ein Gemisch von etwa 80% Glucose-mono-phosphat und 20% Fructose-mono-phosphat ist. Daraus geht hervor, daß, welche Veränderungen auch immer eintreten, diese nicht nur beschränkt sind auf die einfache Einführung oder Abspaltung einer Phosphorsäuregruppe, sondern daß grundsätzliche

Anderungen in der Konstitution des Zuckermoleküls selbst stattfinden.

So anziehend auch immer die Theorie des intermediären Charakters irgendeines der Hexosephosphate sein mag, so scheint es mir doch im Augenblick unmöglich, sie mit einigen der eben beschriebenen Tatsachen in Einklang zu bringen. Die Bildung von 70–80% Hexose-mono-phosphat bei unveränderter Alkohol- und Kohlendioxydbildung macht es unmöglich, daß dieser Ester „offenbar nichts anderes als ein Teil des Intermediärproduktes sein soll, das der gekoppelten Zerfalls-Veresterungsreaktion entgangen ist“⁴⁾.

Es scheint mir, daß der Grundgedanke, der in der ursprünglichen Gleichung von Harden und Young ausgedrückt ist, der Wahrheit näherkommt als jede bis jetzt geäußerte Alternative. Es findet eine gekoppelte Reaktion irgendwelcher Art statt, als deren Resultat die Einführung zweier Phosphorsäuregruppen in gewisse Zuckermoleküle — entweder in dasselbe Molekül oder in zwei verschiedene — die Zersetzung eines anderen Moleküls hervorruft. Die Einführung dieser Phosphorsäuregruppen in Gegenwart von Muskelextrakt und wahrscheinlich auch von Hefe wird tatsächlich begleitet von einer kleinen Wärmeentwicklung⁵⁾, und es ist möglich, daß das für den Ablauf der gekoppelten Reaktion von Bedeutung ist. Welches die Bedingungen der bevorzugten Bildung von Mono- oder Di-ester sind, wissen wir noch nicht, obgleich die Arbeit von Kluyver und Struyk nahelegt, daß dabei die Verdünnung des Enzyms ein Faktor ist.

Der Mechanismus der Vergärung des Mono-esters ist noch nicht genügend bekannt, um starke Argumente für oder gegen die Theorie zu liefern. Aber Dr. Robison und ich haben Versuche gemacht (die bald veröffentlicht werden sollen), die zeigen, daß das Mono-phosphat selbst mit einer weiteren Menge Phosphat reagiert, und daß diese Reaktion von einer vermehrten Kohlendioxyd- und Alkoholbildung begleitet ist. Der Mangel einer exakten chemischen Äquivalenz der Produkte (Ester einerseits, Kohlendioxyd und Alkohol andererseits) ist wahrscheinlich leichter so zu erklären als irgendwie anders.

Zuckerabbau im tierischen und pflanzlichen Organismus.

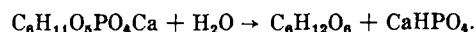
Nach der Erkennung der wichtigen Rolle der Phosphate und Phosphorsäure-ester bei der alkoholischen Gärung fanden dann bald verschiedene Forscher, daß diese Verbindungen den Schlüssel zu anderen biologischen Phänomenen lieferten. Meyerhof hat beobachtet, daß die Cozymase der alkoholischen Gärung eine ebenso große Rolle bei der Atmung der Hefe spielt, und hat ferner die wichtige Feststellung gemacht, daß sie im Muskel vorkommt und einen wesentlichen Faktor des Kohlenhydratabbaus im Muskel darstellt, in dem Embden bereits das Vorkommen eines Hexosephosphor-esters festgestellt hatte. Es zeigte sich, daß diese Erscheinung sich in ganz ähnlicher Weise abspielt wie die der Atmung und Gärung der Hefe, und 1924, bevor das Rätsel der Milchsäuregärung vollständig gelöst war, schrieb Meyerhof (Chemical Dynamics of Life Phenomena 1924): „Es muß in der Tat als ein Erfolg der allgemeinen Physiologie und ihrer Arbeitsmethodik

angesehen werden, daß die chemische Dynamik eines so hoch differenzierten Organs wie des Muskels teilweise durch das Studium der alkoholischen Gärung der Hefe geklärt werden konnte.“ Aber ein noch größerer Erfolg sollte folgen. Es zeigte sich eine erstaunliche Ähnlichkeit zwischen fast allen Einzelheiten der Milchsäurebildung durch die Muskelenzyme und der Alkoholbildung durch Hefe. Sogar die gebildeten Phosphorsäure-ester waren identisch, ferner die Anhäufung der Ester unter ähnlichen Bedingungen und die Wirkung von Arsenat auf der Vorgang. Nach Publikation der vorläufigen beiden Mitteilungen von Meyerhof, in denen diese Beobachtungen angegeben waren, schrieb ich am Schluß eines Ueberblickes über jene Arbeiten den folgenden Absatz (Nature 1926, 18. Dezember), den ich hier anführen möchte. „Die auffallende Ähnlichkeit, die Meyerhof für die Veränderungen der Kohlenhydrate im Muskel und in der Hefenzelle gefunden hat, ist größer, als man hätte annehmen können. Die bemerkenswerten Phänomene der alkoholischen Gärung wiederholen sich nun bei der Milchsäurebildung, und es ist logischerweise anzunehmen, daß die meisten fermentativen Zuckerspaltungen in ähnlicher Weise eingeleitet werden.“

Der direkte Beweis fehlt noch in vielen Fällen; aber einige Beispiele bei den Bakterien (Virtanen), Pilzen (Euler und Kullberg) und höheren Pflanzen (Iwanoff, Bodnar) sind bekannt. Man kann wohl sagen, daß die fundamentalen biologischen Arbeitsmethoden zur Klärung des Kohlenhydratumsatzes beim Studium der alkoholischen Gärung gefunden worden sind.

Verknöcherung.

Eine andere biologische Funktion der Hexosephosphate ebenso wie anderer hydrolysierbarer Phosphorsäure-ester ist die eines Speichers von Phosphationen. Ich freue mich, sagen zu können, daß eine der schönsten und wichtigsten hierher gehörigen Entdeckungen ganz unabhängig von Dr. Robison im Lister Institute gemacht worden ist, als eine direkte Folge seiner Arbeit über das Hexose-mono-phosphat aus Hefensaft⁶⁾. „Während meiner Untersuchungen über die aus den Gärprodukten isolierte Hexose-mono-phosphorsäure“, so sagt er, „wurde die Hydrolyse des Esters durch Enzyme studiert. In einigen Versuchen, in denen die leicht löslichen Calcium- oder Bariumsalze als Substrate benutzt wurden, wurde die fortschreitende Hydrolyse durch die Bildung eines Niederschlags von schwer löslichem Calcium- oder Bariumphosphat angezeigt.“



Das Auftreten dieses Niederschlags führte mich zu der Frage, ob eine solche Reaktion bei der Ablagerung von Calciumphosphat während der Knochenbildung im tierischen Körper beteiligt sein könnte. Zunächst suchte ich in den Knochen wachsender Tiere nach einem Enzym, das zur Hydrolyse befähigt war.“

Das Forschen war erfolgreich. Eine Knochenphosphatase fand sich in dem verknöcherten Knorpel jüngerer Tiere, und es folgte eine Reihe interessanter und wichtiger Untersuchungen, durch die ihr Autor ohne Zweifel auf dem besten Wege ist, eine chemische Erklärung des Verknöcherungsprozesses zu finden — ein gutes Beispiel dafür, daß weitgehende und unerwartete Resultate von Beobachtungen ausgehen, die zu ganz anderem Zwecke gemacht worden sind. [A. 21.]

⁴⁾ Meyerhof u. Lohmann, Biochem. Ztschr. 185, 155 [1927].

⁵⁾ Meyerhof u. Suranyi, ebenda 191, 106 [1927].

⁶⁾ Biochemical Journ. 17, 286 [1923].