

o-Trithymotid (s. o.) kristallisiert ebenfalls in einer (+)- und (-)-Form und zwar nur in Form seiner Einschlußverbindungen. Trithymotid stellt eine inaktive Substanz dar, die als Racemat von zwei sehr leicht ineinander übergehenden Stoffen zu denken ist. Mit Hilfe eines inaktiven Hilfsstoffes (z. B. Benzol als Gast) ordnen sich die Molekeln im Kristall einsinnig als Rechts- oder Linkspropeller an. Durch die Bildung der Einschlußverbindungen können bei gleichzeitiger Wärmebewegung sämtliche Molekeln in die eine Form gebracht und in dieser festgehalten werden.

Proteine, Nucleinsäure

Die Frage, ob Proteine Einschlußverbindungen bilden, läßt sich zunächst noch nicht mit Sicherheit entscheiden, viele Anzeichen sprechen jedoch dafür⁶⁰). Einschlußverbindungen können gewisse Eigenschaften der Fermente modellmäßig wiedergeben^{39, 40}). Der kürzlich aufgeklärte molekulare Aufbau der Desoxy-ribonucleinsäure⁶¹) verdient in diesem Zusammenhange ebenfalls erwähnt zu werden. Die Nucleinsäure bildet eine schraubenförmige Doppelmolekel mit tief eingeschnittenen Schraubengängen, die etwa 8 Å breit und 6 Å tief sind. Protamine und sicherlich auch Proteine liegen in diesen Vertiefungen.

Für das Tabakmosaikvirus wird eine Struktur diskutiert, in der die Nucleinsäure vom Proteinanteil umgeben ist „wie die Mine in einem Bleistift“^{62, 63}). Nucleinsäure und Protein lassen sich reversibel voneinander trennen.

⁶⁰) Ausführl. Diskussion s. ³⁸) S. 61 ff.

⁶¹) M. Feughelman, R. Langridge, W. E. Seeds, A. R. Stokes, H. R. Wilson, C. W. Hooper, M. H. F. Wilkins, R. K. Barclay u. L. D. Hamilton, Nature [London] 175, 834 [1955].

⁶²) G. Schramm, G. Schuhmacher u. W. Zillig, Z. Naturforsch. 10b, 481 [1955].

⁶³) H. L. Fraenkel-Conrat, W. Stanley, R. Williams, Chem. a. Ind., 33, 4794 [1955].

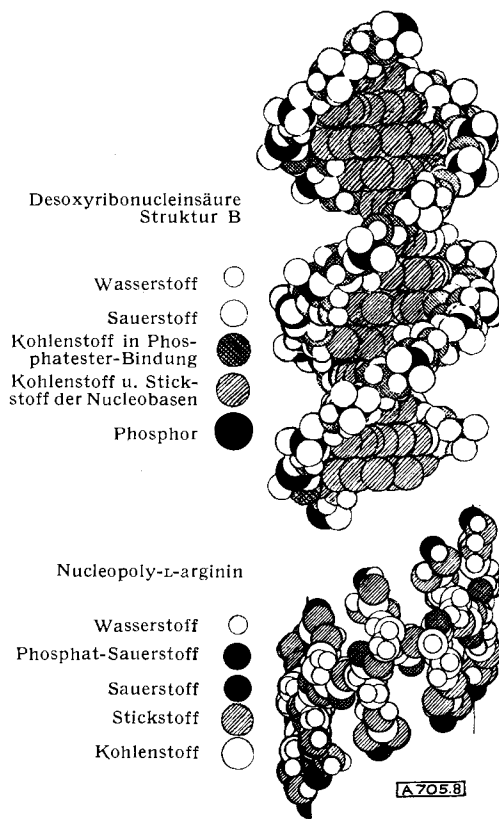


Bild 8
Modell der Desoxy-ribonucleinsäure⁶¹). Oben Nucleinsäure, unten das eingelagerte Protamin

Eingegangen am 1. Dezember 1955 [A 705]

Zuschriften

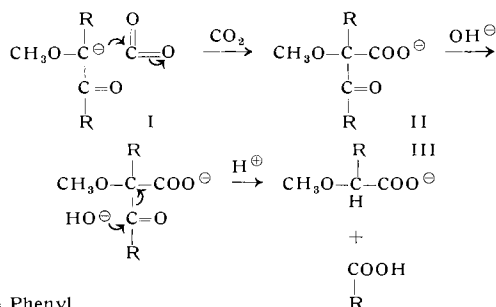
Modellreaktion zur CO₂-Fixierung

Von Dr. F. CRAMER und BARBARA PROSKE

Chemisches Institut der Universität Heidelberg

Nach Calvin¹), Horecker²) und Racker³) besteht der Primärprozeß der CO₂-Fixierung bei der Assimilation in einer Carboxylierung von Ribulose-1,5-diphosphat. Die entstandene β-Ketocarbonsäure soll sofort nach Art einer Säurespaltung in 2 Mole 3-Phospho-glycerinsäure zerfallen.

Die Calvinsche Carboxylierungsreaktion ist bisher ohne chemische Analogie. An einem einfachen Modell können wir die Möglichkeit einer solchen Reaktion zeigen. Benzoliummethyläther (I) wird in die Na-Verbindung überführt, die mit CO₂ die Säure II ergibt, welche als Methyl ester faßbar ist. In wäßrig-alkalischer Lösung wird II rasch in Benzoesäure und Methyläther-Mandelsäure (III) gespalten.



R = Phenyl

Eingegangen am 17. Dezember 1955 [Z 286]

- ¹) M. Calvin u. P. Massini, Experientia 8, 445 [1952]. J. A. Bassham, A. A. Benson, L. D. Kay, A. Z. Harris, A. T. Wilson u. M. Calvin, J. Amer. chem. Soc. 76, 1760 [1954]; J. K. Quayle, R. C. Fuller, A. A. Benson, M. Calvin, ebenda 76, 36 10 [1954]; A. T. Wilson, M. Calvin, ebenda 77, 5948 [1955].
²) A. Weissbach, P. Z. Smyrniotis u. B. L. Horecker, J. Amer. chem. Soc. 76, 3611 [1954].
³) E. Racker, Nature [London] 175, 249 [1955].

Zur Kenntnis der Phospholipasen B und D des Gerstenmalzes

Von Priv.-Doz. Dr. L. ACKER*) und Dr. H. BÜCKING

Aus dem Universitätsinstitut für Lebensmittelchemie Frankfurt/M.

Die in einigen Pflanzen nachgewiesene Phospholipase D ist von uns vor einiger Zeit auch in Cerealien festgestellt worden¹). Für das Studium der Eigenschaften des Enzyms haben sich Extrakte aus Gerstenmalz als besonders geeignet erwiesen. Als Substrat wurde weitgehend (nach der Vorschrift von W. C. Pangborn²)) gereinigtes Lecithin verwendet. Die früher am Rückgang des mit Äther extrahierbaren Lecithins studierte enzymatische Hydrolyse haben wir jetzt am Auftreten freien Cholins verfolgt, das nach A. Rejček und S. Šir³) selektiv an Permutit G adsorbiert und damit von Lecithin abgetrennt werden kann. Die enzymatische Cholin-Abspaltung ließ sich auch bei uns durch Äther-Zugabe aktivieren, wenn auch nicht in dem von M. Kates⁴) beobachteten Umfange. Die von Kates in Spinatblättern nachgewiesene Phospholipase D ist in den Chloroplasten lokalisiert und daher durch Ultrazentrifugieren sedimentierbar. In unsern Auszügen aus Gerstenmalz blieb aber die Aktivität auch bei Ultrafiltrieren und Ultrazentrifugieren (40000 U/min) erhalten. Natriumfluorid hemmt erst merklich in einer Konzentration von 10⁻² m an. Die Phospholipase D-Natur des Enzyms konnte am Auftreten von Phosphatidsäuren in den Lipoidextrakten bewiesen werden, allerdings erst nach Zugabe von Natriumfluorid zu den Ansätzen, da sonst die primär entstehende Phosphatidsäure sofort weiter abgebaut wird.

Bei der Aufstellung einer Cholin-Bilanz bei der Einwirkung von Gerstenmalzauszügen auf reines Lecithin blieb nach Ermittlung des ungespaltenen Lecithins und des freien Cholins ein Fehlbe-

*) Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. K. Freudenberg, zum 70. Geburtstag gewidmet.

¹) L. Acker u. G. Ernst, Biochem. Z. 325, 253 [1954].

²) W. C. Pangborn, J. biol. Chemistry 188, 471 [1951].

³) A. Rejček u. S. Šir, Naturwissenschaften 41, 119 [1954].

⁴) M. Kates, Nature [London] 172, 814 [1953].

trag. Es mußte demnach in der wäßrigen Lösung ein durch Permutit nicht adsorbierbarer Cholinester vorliegen. Nach zweistündigem Kochen in 20proz. Salpetersäure, eine Behandlung, wie wir sie nach G. Ducet und E. Kahane⁵⁾ mit gutem Erfolg zur Entfernung störender Substanzen anwenden, ließ sich dieser Ester als Cholinneajodid bestimmen in einer Menge, die genau der Lücke in der Cholin-Bilanz entsprach. Als mögliche, aus Lecithin durch enzymatische Hydrolyse abspaltbare Cholinester kamen nur Glycerophosphorsäure-cholinester und Phosphorylcholin in Betracht. Da aber Phosphorylcholin bei einer solchen Behandlung praktisch nicht aufgespalten wird, konnte es sich nur um Glycerophosphorsäure-cholinester handeln. Es mußte dann also neben der Phospholipase D noch eine Phospholipase B in Gerstenmalz vorliegen. Die in diesem Falle ebenfalls als Spaltprodukte zu erwartenden freien Fettsäuren ließen sich in den Benzol-Extrakten auch tatsächlich nachweisen. Durch Ultrafiltrieren und Ultrazentrifugieren kann dieses Enzym praktisch vollständig aus dem Extrakt abgeschieden und damit von der Phospholipase D abgetrennt werden. Noch besser gelingt die Trennung der beiden Phospholipasen mit Hilfe von Permutit. Wie schon A. Rejek und

⁵⁾ G. Ducet u. E. Kahane, Bull. Soc. Chim. biol. 28, 799 [1946].

S. Šir³⁾ fanden, läßt sich die Phospholipase D an Permutit adsorbieren und von der Phosphatase abtrennen. Nach unseren Ergebnissen ist die Adsorption vollständig. Die Phospholipase B-Aktivität der Auszüge bleibt dagegen beim Durchlauf durch eine Permutit-Säule voll erhalten. Dadurch konnte die Phospholipase B frei von jeder Phospholipase D-Wirkung studiert werden. Ihr pH -Optimum liegt bei pH 6,0–6,3, ihr Temperaturoptimum bei 25 °C.

Weiterhin haben unsere Untersuchungen gezeigt, daß der Gerstenmalzauszug vor dem Durchlauf durch Permutit auch den wasserlöslichen Cholinester unter Bildung von Cholin weiter aufzuspalten vermag, nach dem Durchlauf jedoch nicht mehr. Wir vermuten daher, daß die Phospholipase D, die bei diesem Durchlauf adsorbiert wird, vielleicht auch für diese Wirkung verantwortlich ist, so daß sie also nicht spezifisch auf Lecithin eingestellt wäre, sondern eine Phosphodiesterase von allgemeinerer Wirkung darstellen würde. Dafür würde auch die Tatsache sprechen, daß die Cholin-Abspaltung aus Lecithin durch Zugabe von Diphenylphosphat gehemmt wird.

Die Arbeit erscheint ausführlich in der Biochemischen Zeitschrift.

Eingegangen am 15. November 1955 [Z 268]

Versamlungsberichte

Internationales Symposium. Enzyme als biologische Struktur- und Funktionseinheiten

Detroit, Michigan, 1.–3. November 1955

Das dreitägige Symposium im Henry-Ford-Hospital und Edsel B. Ford Institute for Medical Research befaßte sich vor allem mit den Grundlagen der heutigen Fermentlehre. Zugleich wurde deutlich, in welchem Umfange andere Disziplinen, z. B. Genetik, Pharmakologie, Mikrobiologie, von biochemischen Forschungsrichtungen Gebrauch machen und durch das Studium von Enzymen wesentliche Fortschritte bei der Lösung eigener Probleme erzielen. So sind es, um eine Diskussionsbemerkung von V. R. Potter (Madison) zu zitieren, sehr verschiedene Höhenlagen auf Berghängen zwischen „Sümpfen“, auf denen sich der einzelne Forscher ansiedelt, weil er hier „Überlebensmöglichkeiten“ findet. Daraus resultieren bereits Verständigungsschwierigkeiten.

Ein immer wieder anklingendes Thema war das der Molekularstruktur von Enzym und Substrat. L. R. Pauling (Pasadena) wies auf die Frage der Spezifität hin, die Enzymologie und Immunologie gemeinsam ist. Das Geheimnis der Konstanz des Erbgutes und der Spezifität der Fermentwirkung findet die wahrscheinlichere Erklärung nicht in der Annahme spezieller stabilisierender Kräfte zwischen identischen Molekeln, sondern in den viel stärkeren Kräften zwischen nicht-identischen, aber zueinander passenden Molekeln. Auch das Watson-Crick-Modell der Desoxyribonucleinsäure-Struktur basiert auf der Annahme, daß jede Hälfte der Doppelkette bei der identischen Reduplikation die Matrize für die jeweils andere, nicht identische Hälfte der Desoxyribonucleinsäure-(DNS)-Molekel darstellt. Die Erforschung der Komplementärstruktur von Substrat und Enzym („aktiver Bereich“) wird als die wesentliche, lösbare Zukunftsaufgabe der Enzymologie angesehen.

Ein eindrucksvolles Beispiel der Spezifität gab J. Monod (Paris) hinsichtlich der induzierten β -Galactosidase-Bildung bei Mikroorganismen. Methyl- β -D-thiogalactosid, das selbst nicht gespalten wird, vermag gleichwohl die Bildung des Enzyms zu veranlassen, und wird in seiner Wirkung durch z. B. Thiophenylgalactosid kompetitiv gehemmt. Die „Information“, die die Zelle zur Enzymbildung braucht, muß in ihr am Ort der Galactosid-Bindung *a priori* vorgegeben sein (sonst könnte keine Bindung eintreten), die Zelle erhält also durch die induzierende Substanz keine ganz neue „Struktur“-Information. Erster Schritt der β -Galactosidase-Bildung ist die Entstehung eines den Auslöser konzentrierenden Systems (γ) in der Zellmembran, das nach Hemmungs- und Mutantenversuchen autokatalytischen Charakter hat. Erst nach genügender Konzentrierung des Auslösers in der Zelle setzt in einem zweiten Schritt die eigentliche Enzymbildung ein. Nach M. Cohn (St. Louis) liefert eine Induktion bis zu 15000 Molekeln β -Galactosidase je Bakterienzelle.

Zusammenhänge zwischen Vererbung, Nucleinsäuren und Fermenten wurden in zahlreichen Vorträgen berührt. B. Ephrussi (Paris) legte dar, daß die Differenzierung einer Zelle (mit allen Konsequenzen hinsichtlich der Fermentausrüstung) ein vermutlich genotyp gesteuerter Prozeß ist, der nach der Entfernung nicht hingehörender Entwicklungspotentiale dann phänotypabhängig wird, was zugleich die Existenzmöglichkeit der spekulativen „Plasma-Gene“ ausschließt. Nach N. H. Horowitz (Pasadena)

hat zwar die 1-Gen-1-Enzym-Hypothese zahlreiche Ausnahmen, doch ist z. Zt. keine bessere oder andere Vorstellung als diese Hypothese formulierbar. Wenn man die Mutante als eine nur partiell inaktivierte Form eines Allels (Allele = Erbinheiten, die sich in einer Erbmasse gegenseitig vertreten können) auffaßt, wird erklärbar, daß polyploide Mutanten häufig normalen Phänotyp haben. Dies wird durch Untersuchungen an einem die Thermostabilität von Tyrosinase um den Faktor 100 erhöhenden Protein belegt. Auch C. Yanofsky (Cleveland) kommt nach Untersuchungen an Suppressorgenen für Mutanten, denen Tryptophan-Synthetase fehlt, zu den gleichen Schlüssen. 1 Genlocus liefert insgesamt 24 unterschiedliche Mutanten; wahrscheinlich werden durch verschiedene Bereiche des Genlocus verschiedene Eigenschaften des Enzyms determiniert, die mit immunologischen Methoden, Thermolabilitätsmessungen, genetischer Analyse usw. erfaßbar werden. Nach M. Demerec (Cold Spring Harbor) ist auch am Beispiel von Histidin-Mangelmutanten feststellbar, daß vier verschiedene biochemische Mangelzustände aus insgesamt 34 genetisch differenzierten Mutationen resultieren können.

Nach den heute vorliegenden Befunden ist die Bildung von Fermenten viel stärker von Ribonucleinsäure als von Desoxyribonucleinsäure abhängig. Zwischen den die Desoxyribonucleinsäure tragenden Chromosomen und den die Fermentsynthese besorgenden Cytoplasma-Strukturen dürfte daher Ribonucleinsäure als Mittler eingeschaltet sein. S. Spiegelman (Urbana) erhielt aus *B. megatherium* mittels Lysozym Protoplasmapartikel, aus denen mit Lipase der Zellkern entfernt werden kann. Entfernung von Desoxyribonucleinsäure mit Desoxyribonuclease läßt die Fermentbildung in diesen Partikeln intakt, anschließende Ribonucleinsäure-Hydrolyse mit Ribonuclease macht dagegen die Fermentbildung zu nichte, sobald mehr als 20 % des Ribonucleinsäure-Bestandes abgebaut sind. E. F. Gale (Cambridge) zeigte an Hand der Bildung von Katalase, Glucozymase und β -Galactosidase (adaptativ) in Zellpartikeln aus *Staphylokokken*, daß intakte Ribonucleinsäure-Synthese stets für die Bildung konstitutiver Enzyme vonnöten ist, (ebenso S. Spiegelman); in manchen Fällen muß auch die Ribonucleinsäure-Struktur intakt sein. Weit weniger auffällig sind die Beziehungen zwischen Protein-Synthese und Desoxyribonucleinsäure-Bildung; vielleicht hängt sogar die Desoxyribonucleinsäure-Synthese von der Eiweißbildung ab. Untersuchungen von A. D. Hershey (Cold Spring Harbor) an Bakteriophagen zeigen ebenfalls, daß Desoxyribonucleinsäure- und Protein-Synthese nicht strikt aneinander gekoppelt sind. Die Rolle, die Desoxyribonucleinsäure bei der Ferment-Synthese spielt, wird z. Zt. wohl deutlich durch die *transforming principle*-Aktivität tragenden Desoxyribonucleinsäure-Präparationen, über die R. D. Hotchkiss (New York) berichtete. Z. B. kann die Bildung von Diphosphopyridinnucleotid-abhängiger Mannitphosphat-Dehydrogenase durch Einwirkung von transformierendem Material ausgelöst werden. Doppel- und Mehrfachtransformationen wurden mit folgenden Eigenschaften erreicht: Mannit-Utilisation, Resistenz gegen Sulfonamide oder Penicillin bzw. Streptomycin. D. Mazia (Berkeley) berichtete über radioautographische Isotopenversuche an zell-