

### Experimentelles.

Ca. 50 mg des Pulvers der Coli-Bazillen werden in 10 cm<sup>3</sup> 0,15-molarer Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung suspendiert und zur Autolyse 2 Stunden bei 37° gehalten. Hierauf bringt man die Suspension ohne irgendwelche Trennung in einen Kollodiumsack und dialysiert während 48 Stunden gegen einen 0,2-molaren Acetatpuffer von p<sub>H</sub> 5,5 bei 0° (4-malige Erneuerung des Acetatpuffers). Die im Kollodiumsack zurückgebliebene, etwas opaleszierende Flüssigkeit, die pro cm<sup>3</sup> ca. 5 mg Mikroorganismen-Trockengewicht enthält, dient direkt zu den Ferment-Versuchen.

Ausführung der Decarboxylierungen. In den zentralen Teil des *Warburg*-Gefäßes bringt man 2 cm<sup>3</sup> der dialysierten Fermentlösung und 1 cm<sup>3</sup> Acetatpuffer p<sub>H</sub> 5,5 bzw. 1 cm<sup>3</sup> Acetatpuffer + 30γ Pyridoxal-acetal-phosphat. — In den Seitenansatz des *Warburg*-Gefäßes kommen 0,5 cm<sup>3</sup> 0,05 molare Lösung der zu prüfenden Aminosäure, die nach erfolgtem Temperatúrausgleich (28° C) eingekippt werden.

Herrn Prof. *A. Grumbach* (Institut für Bakteriologie und Hygiene, Universität Zürich) danken wir sehr für seine Hilfe bei der Beschaffung und Züchtung der verwendeten Mikroorganismen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

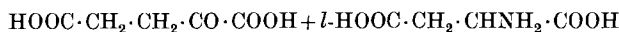
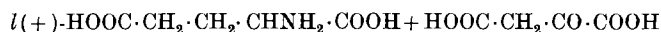
## 65. Zur Frage der Wirkungsgruppe der Transaminasen

von P. Karrer und M. Viscontini.

(29. I. 47.)

Nachdem Transaminierungsvorgänge zwischen Aminosäuren und α-Ketocarbonsäuren bei Tieren und höheren Pflanzen aufgefunden worden waren<sup>1)</sup>, suchte man solche auch in Mikroorganismen nachzuweisen. Die Ergebnisse waren positiv. *Adler, Hellström, Günther* und *H. v. Euler*<sup>2)</sup> fanden, dass der *Bacillus coli* gewisse Transaminierungen durchführen kann; zum selben Ergebnis gelangte *Diczfalusy*<sup>3)</sup>.

*Lichstein* und *Cohen* griffen das Problem erneut auf<sup>4)</sup>. Sie studierten die Transaminierungsreaktion zwischen *l*(+)-Glutaminsäure und Oxallessigsäure einerseits, α-Ketoglutarsäure und *l*(+)-Asparaginsäure andererseits



und fanden, dass sich dieser Vorgang mit sehr verschiedenen Mikroorganismen, wie Streptokokken, Pneumokokken, *Acetobacter vine-landii*, *Bacillus Welchii* und *Bacillus coli* durchführen lässt.

<sup>1)</sup> Literaturzusammenstellung bis 1939 vgl. *Braunstein*, *Enzymol.* **7**, 25 (1939).

<sup>2)</sup> *Z. physiol. Ch.* **255**, 14 (1938).

<sup>3)</sup> *Bioch. Z.* **313**, 75 (1942).

<sup>4)</sup> *J. Biol. Chem.* **157**, 85 (1945).

*Schlenk* und *Snell*<sup>1)</sup> berichteten, dass ein Auszug aus Muskeln normal ernährter Ratten viel stärkere Transaminierungen durchführt als ein solcher von Ratten, die an einer starken Vitamin B<sub>6</sub>-Avitaminose litten. Es wurde daher vermutet, dass ein Derivat des Vitamins B<sub>6</sub> an der Transaminierungsreaktion beteiligt sei. Diese letztere Hypothese suchten *Cohen* und *Lichstein*<sup>2)</sup> dadurch zu prüfen, dass sie zu Transaminierungsversuchen einerseits einen normal gezüchteten, andererseits einen auf einem B<sub>6</sub>-freien Nährboden gewachsenen Stamm von *Streptococcus faecalis* verwendeten. In beiden Fällen war das Transaminierungsvermögen jedoch gleich gross, so dass die Hypothese der Stimulierung dieser Reaktion durch ein Pyridoxinderivat in diesen Versuchen keine Stütze fand.

Dagegen berichten *D. E. Green*, *L. F. Leloir* und *V. Nocito*<sup>3)</sup> über zwei Transaminasen aus Schweineherz, die beide Pyridoxal-phosphat als prosthetische Gruppe enthalten; sie übertragen die NH<sub>2</sub>-Gruppe von Glutaminsäure zu Oxalessigsäure oder von Asparaginsäure auf  $\alpha$ -Ketoglutarsäure; ferner von Glutaminsäure auf Brenztraubensäure und von Alanin auf  $\alpha$ -Ketoglutarsäure.

Endlich haben *A. E. Braunstein* und *M. G. Kritzmann*<sup>4)</sup> untersucht, ob Pyridoxal-phosphat als Coferment der Asparaginsäureaminopherase (aus Herzmuskel) wirken kann, d. h. jenes Fermentes, welches aus Brenztraubensäure und Asparaginsäure Alanin bildet. Sie kamen dabei zur Verneinung dieser Frage. *Gale* und *Tomlinson*<sup>4)</sup> bestätigten gleichzeitig, dass in dieser Transaminierungsreaktion Pyridoxal-phosphat nicht die Rolle eines Cofermentes ausübt. Andererseits berichten sie, dass ein hochwertiges Präparat von Glutaminsäureaminopherase (welches aus Glutaminsäure und Brenztraubensäure Alanin bildet) gute Codecarboxylasewirkung für Tyrosin aufwies.

Wir haben Versuche ausgeführt, die feststellen sollten, ob das von uns synthetisierte, krystallisierte Pyridoxal-acetal-phosphat<sup>5)</sup>, welches als Coferment der Tyrosin-decarboxylase wirksam ist, auch als prosthetische Gruppe von Transaminasen wirken kann. Als Apoferment benutzten wir ein mit Aceton getrocknetes Präparat von *Streptococcus faecalis*, das kein Decarboxylierungsvermögen für Glutaminsäure besass. Als Substrate der Transaminierung wurden l(+)-Glutaminsäure+Oxalessigsäure gewählt und die Bestimmung der durch Transaminierung gebildeten Asparaginsäure nach den Angaben von *Cohen*<sup>6)</sup> und *Lichstein* und *Cohen*<sup>7)</sup> ausgeführt. (Nach der Zerstörung der überschüssigen Oxalessigsäure behandelt man die Lösung, welche Glutaminsäure und Asparaginsäure enthält, mit p-

1) J. Biol. Chem. **157**, 425 (1945).

2) J. Biol. Chem. **159**, 367 (1945).

3) J. Biol. Chem. **161**, 559 (1945).

4) Nature **158**, 102 (1946).

5) Helv. **30**, 52 (1947).

6) J. Biol. Chem. **136**, 565 (1940).

7) J. Biol. Chem. **157**, 85 (1945).

Toluolsulfon-chloramid, wobei Glutaminsäure 1 Mol CO<sub>2</sub>, Asparaginsäure 2 Mol CO<sub>2</sub> liefert.)

Die Messungen wurden in der *Warburg*-Apparatur vorgenommen. Jedes Gefäß enthielt 25 mg trockenes Pulver von *Streptococcus faecalis*. Die Reaktionsdauer betrug 20 Minuten, die Reaktionstemperatur 38°.

Alle Versuche zeigten, dass das benützte Apoferment (Pulver von *Strept. faecalis*) eine wirksame Transaminase enthält, welche aus *l*(+)-Glutaminsäure und Oxalessigsäure Asparaginsäure erzeugt, dass aber krystallisiertes Pyridoxal-acetal-phosphat die Geschwindigkeit dieser Transaminierungsreaktion nicht verstärkt.

## 1. Versuch.

	Blind-versuch		Zusatz von 25 mg Apoferment	Zusatz von 25 mg Apoferment + 50 γ Pyridoxal-acetal-phosphat	
	Gemessene Menge CO <sub>2</sub> (mm <sup>3</sup> ) . .	120	123	149	155
Durch Transaminierung bewirkte zusätzliche CO <sub>2</sub> -Entwicklung .			24%	28%	27%

## 2. Versuch.

	Blind-versuch		Zusatz von 25 mg Apoferment			Zusatz von 25 mg Apoferment + 50 γ Pyridoxal-acetal-phosphat		
	Gemessene Menge CO <sub>2</sub> (mm <sup>3</sup> ) . . . . .	152	148	168	160	160	166	162
Durch Transaminierung bewirkte zusätzliche CO <sub>2</sub> -Entwicklung . . . . .			12%	7%	7%	10%	8%	8%

Unsere mit dem krystallisierten Pyridoxal-acetal-phosphat erzielten Ergebnisse zeigen, dass Pyridoxal-phosphorsäure-ester (mit dem Phosphorsäurerest am phenolischen Hydroxyl) sehr wahrscheinlich nicht das Coferment der in *Streptococcus faecalis* wirksamen Transaminase sein kann. Ob es andere Transaminasen gibt, in denen Pyridoxal-phosphat als Wirkungsgruppe auftritt, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.