

Die Eigenschaften der Proteine als Funktion ihres Feinbaues

Von

ST. J. V. PRZYŁĘCKI

Aus dem Institut für physiologische Chemie der Universität Joseph Pilsudski in
Warschau

Mit 3 Figuren im Text

(Eingegangen am 18. 8. 1936. Vorgelegt in der Sitzung am 15. 10. 1936)

Die Eigenschaften der Proteine können auf zweierlei Weise betrachtet werden. Erstens als kolloidale, mit großer Oberfläche behaftete Teilchen-Micellen. Sie können aber auch als organische Stoffe, als aus vielen sehr verschiedenen Gruppen aufgebaute Makromoleküle angesehen werden. In dem zweiten Fall können sie rein chemisch untersucht werden. Der letzte Weg ist umsomehr erlaubt, da dank vieler verschiedener Methoden ersichtlich ist, daß viele Repräsentanten dieser Körperklasse aus langen Hauptvalenzketten in Form von Fäden gebaut sind (MARK-MEYER¹, STAUDINGER², WALDSCHMIDT-LEITZ³, SVEDBERG⁴). Zwei Dimensionen der Fäden liegen in der Größenordnung der Kristalloide (RIDEAL⁵, GORTER und GRENDL⁵, ADAM⁵, ASTBURY⁶).

Deswegen ist es erlaubt anzunehmen, daß das Verhalten der Proteinsole, was ihr Reagieren mit verschiedenen Stoffen anbetrifft, in vielen Punkten ähnlich sein wird demjenigen der Aminosäuren und Polypeptiden, aus denen sich die Eiweißkörper aufbauen.

¹ H. MARK und K. H. MEYER, Der Aufbau der hochpolymeren organischen Naturstoffe. Leipzig 1930.

² H. STAUDINGER, Die hochmolekularen organischen Verbindungen. J. Springer 1932.

³ E. WALDSCHMIDT-LEITZ, Neuere Untersuchungen über den Aufbau der Eiweißkörper. Leipzig 1931.

⁴ THE SVEDBERG, Kolloid-Z. **51** (1930) 10.

⁵ GORTER und GRENDL, Biochem. Z. **201** (1928) 398; GORTER und SEEDER, Kolloid-Z. **58** (1932) 257; **61** (1933) 264; E. K. RIDEAL, Kolloid-Z. **61** (1932) 218; N. R. ADAM, Kolloid-Z. **61** (1932) 168.

⁶ W. T. ASTBURY, Kolloid-Z. **69** (1934) 340.

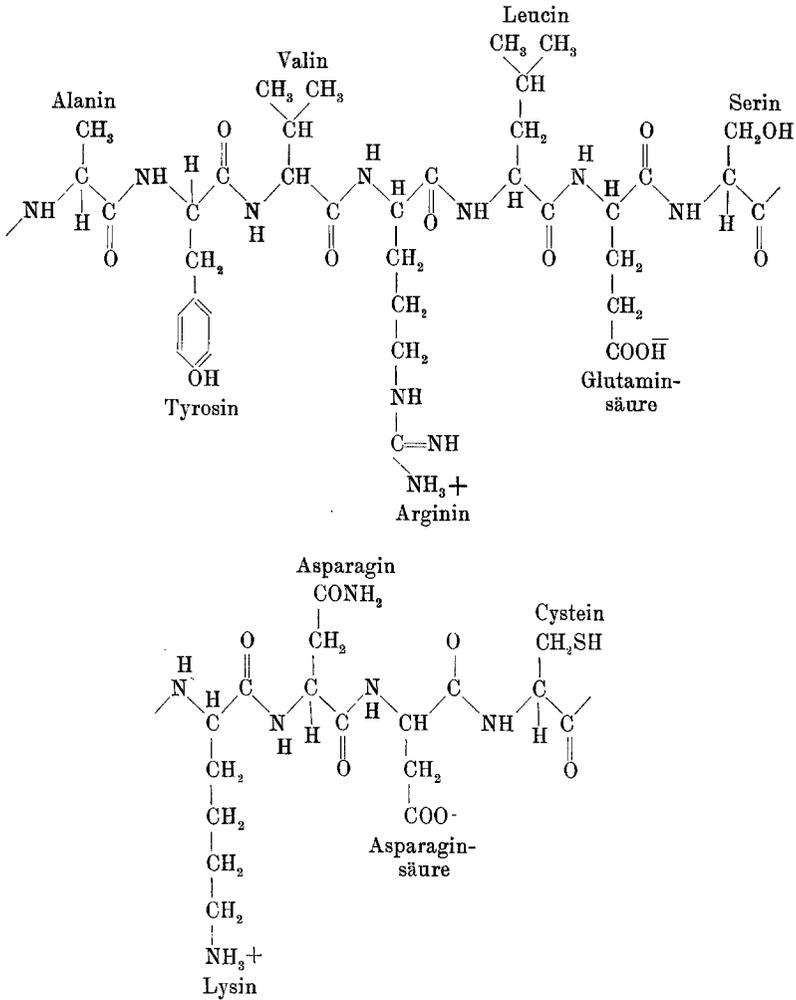


Fig. 1.

Diese Annahme hat durch die Versuche von PAULI⁷, HARDY⁸, SØRENSEN⁹, COHN¹⁰, SCHMIDT¹¹ und mehrere andere in vielen Fällen ihre Bestätigung erfahren.

Die Mehrzahl der Proteine enthalten außer der Bindegruppe CONH viele sehr verschiedene Seitenketten, die aus den Aminosäureresten entstanden sind. Die Fig. 1 gibt ein schematisches

⁷ W. PAULI und E. VALKÓ, Kolloidchemie der Eiweißkörper. Dresden und Leipzig 1933.

⁸ W. B. HARDY, J. Physiol. **33** (1905) 251.

⁹ P. S. L. SØRENSEN, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **103** (1918) 162.

¹⁰ E. COHN, Erg. d. Physiol. **33** (1931) 781 und Naturwiss. **20** (1932) 663.

¹¹ C. L. SCHMIDT in Harrow and Sherwin Textbook of biochemistry 1935.

Bild eines Teiles eines Proteinteilchens. Die Seitenketten bilden mit der Bindegruppe 14 verschiedene Gruppentypen, und zwar:

1. Apolare Reste des Glycins, Alanins, Butyrins, Valins, Nor-, Iso- und Leucins und Prolins.
2. Cyclische — Phenylalanin.
3. Hydroxylgruppen in Serin, Oxybutyrin und Oxyprolin.
4. Carboxylgruppen in Asparagin und Glutaminsäure und der Endaminosäure.
5. Phenyl in Tyrosin.
6. SH, S—S in Cystin und Cystein sowie S—CH₃ in Methionin.
7. NH₂ in Lysin und der Endaminosäure.
8. Imidazolrest in Histidin.
9. Guanidinrest in Arginin.
10. Hydroxyl- und Carboxylgruppen in Oxyglutaminsäure.
11. Hydroxyl- und Aminogruppe in Oxylysin.
12. Amide CONH₂, vielleicht auch Oxyamide.
13. Indolring in Tryptophan.

Leider ist die Analyse der Konstituenten der Proteine nicht vollständig. Außer den angegebenen Gruppen sind noch andere vorhanden. Es wird heute behauptet, daß einzelne Proteine Cytrulin, Ornithin, Thiohistidin eine dreibasische Aminosäure enthalten.

Alle diese freien Gruppen sind die Ursache der Affinitäten der Proteine zu sehr verschiedenen Stoffen wie Ionen, polaren Stoffen wie Polysaccharide, Farbstoffe, Fette, Cholesterin, oder apolare Stoffe wie Ligroin, Paraffine, Benzol usw. Die An- oder Abwesenheit sowie das verschiedene Verhältnis bestimmter Gruppen und ihre gegenseitige Lagerung in einzelnen Proteinen sind die Grundursache verschiedener Eigenschaften einzelner Proteine.

Als besonders schöne Beispiele solcher funktioneller Abhängigkeit zwischen dem Bau und den Eigenschaften der Proteine können die klassischen Untersuchungen von HARDY⁶ und PAULI⁷ über die Bindung der Proteine mit anorganischen Ionen dienen.

Wir haben in unserem Institut seit 8 Jahren ein etwas anderes Problem bearbeitet, und zwar das Problem der Abhängigkeit der Bindungsfähigkeit der Proteine mit Polysacchariden, Nucleotiden, Nucleosiden, Lipoiden in Abhängigkeit von dem Bau des Eiweißkörpers, besonders von der Menge bestimmter Aminosäuren und ihrer Anordnung im Proteinteilchen.

Die chemische Reaktionsfähigkeit der Proteine ist sicher nicht auf die elektrostatischen Ionenaustausch-Reaktionen begrenzt. Sicher sind derartige Reaktionen sehr verbreitet und spielen bei der Bindung der Proteine mit sehr verschiedenen Stoffen eine Rolle. Das Protein, das sowohl positive als auch negative Ladungen tragen kann, reagiert als Anion oder Kation nicht nur mit anorganischen Ionen. Viele Reaktionen zwischen Eiweiß und verschiedenen organischen Kolloiden oder Kristalloiden können als salzartige Verbindungen betrachtet werden, so z. B. die Verbindungen der Proteine mit Phosphorsäure-Estern wie mit Hexosephosphorsäure¹² mit phosphorylierten Flavinen¹³, Nucleinsäuren¹⁴, Fettsäuren¹⁵.

Frl. KRONENBERG¹⁶ hat in unserem Institut beobachtet, daß eine Proportionalität zwischen dem Gehalt an basischen Aminosäuren und der maximalen, mit 1 g Protein gebundenen Nucleinsäuremenge existiert.

Die neuesten Untersuchungen über die Dissoziationskonstante und die p_k verschiedener Aminosäure bewiesen, daß die Dissoziation besonders der Argininreste noch bei hohen p_H 12 bis 13 nicht vollständig zurückgedrängt ist. Aus diesem Grund kann das Protein noch weit oberhalb seines isoelektrischen Punktes mit Anionen reagieren. Diese Reaktion ist aber nur dann möglich, wenn die basischen Gruppen nicht zu nahe von einer großen Anzahl Carboxylgruppen umgeben sind und wenn das reagierende Anion das einer starken Säure ist¹⁵. So konnte Frl. KRONENBERG nachweisen, daß das Edestin, das ziemlich viel Argininreste besitzt, obwohl sein J. P. bei p_H 7 liegt, noch bei p_H 8—9 Nucleinsäure binden kann. Im Gegensatz dazu bildet das Casein keine Nucleine oberhalb seines J. P. ($p_H=5$). Dieses Protein enthält sehr wenig Arginin und enthält Phosphorsäureester.

Außer rein salzartigen Verbindungen können die Protein-
teilchen dank den verschiedenen Gruppen in kovalenz- und koordinationschemische Verbindungen mit organischen Kristalloiden und

¹² V. PRZYLECKI und GRYNBERG, *Biochem. Z.* **248** (1932) 16.

¹³ R. KUHN, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **68** (1935).

¹⁴ V. PRZYLECKI und Mitarbeiter, *Biochem. Z.* **251** (1932) 248 und weitere; E. HAMMARSTEN, *Biochem. Z.* **144**, **147** (1924).

¹⁵ V. PRZYLECKI und KASPRZYK in *Biochem. Z.* in Druck.

¹⁶ KRONENBERG unpubliziert.

Kolloiden eingehen. Die Anwesenheit von OH, COOH, NH₂, OH,



S—S und anderer Gruppen ermöglicht es den Proteinen, kovalenzartige Verbindungen mit Aldehyden, Ketonen, einfachen Zuckern (v. EULER¹⁷, NEUBERG¹⁸), Fettsäuren und COOH-Gruppen enthaltenden Stoffen¹⁹ einzugehen. Die OH-Gruppe kann z. B. mit Fettsäuren esterartige Verbindungen geben. Die COOH-Gruppe kann mit Alkoholen, Zuckern Ester bilden²⁰. Diese Bindungsart bedarf, um in ausgiebiger Weise erreicht zu werden, besonderer Bedingungen, da sie meistens reversible Reaktion gibt, die bestimmter Katalysatoren oder Enzyme bedarf.

Eine Bindungsart à part bilden die koordinationsartigen Verbindungen von Proteinen mit verschiedenen Stoffen.

Bis jetzt haben wir Untersuchungen über die Bindung der Proteine mit 1. ionenfreien Polysacchariden, 2. Nucleosiden, 3. Purinbasen, 4. Fettsäuren in wasserfreien Systemen, 5. mehrwertigen Alkoholen wie Glycerin, 6. Estern ausgeführt. Über Molekülverbindungen der Proteine mit Aminosäuren wurden schöne Untersuchungen durch PFEIFFER²¹ und seine Mitarbeiter ausgeführt. PFEIFFER nimmt an, daß die Aminosäuren in dieser Weise mit Säuren und Salzen reagieren. Tryptophan soll auch mit der CONH-Gruppe reagieren.

In der letzten Zeit wurde eine Bindung der Proteine mit Flavinen²², Vitamin D²³ nachgewiesen.

Das Proteinteilchen enthält sehr verschiedene Gruppen, die zu koordinationsartigen Verbindungen befähigt sind. Zu ihnen gehören 1. die CONH-¹⁵, 2. OH-, 3. COOH-, 4. NH₂-, 5. C_N^N, 6. NH=C_{NH}^{NH₂}, 7. SH-Gruppen.

Die koordinationsartigen Verbindungen sind sehr spezifisch und jede Reaktion kann nur zwischen ganz bestimmten Gruppen des Proteins und der zweiten Komponente zustandekommen.

¹⁷ H. v. EULER, JOSEPHSON und BRUNIUS, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **153**, 155, 161 (1926).

¹⁸ C. NEUBERG und M. KOBEL, Biochem. Z. **162** (1925), **174**, **179** (1926).

¹⁹ v. PRZYLECKI und KASPRZYK, unpubliziert.

²⁰ v. PRZYLECKI und SYM, unpubliziert.

²¹ P. PFEIFFER, Organische Molekülverbindungen, Stuttgart 1927, besonders S. 319.

²² R. KUHN, Ber. dtsch. chem. Ges. **68** (1935).

²³ SUPPLEE, ANSBACHER, BENDER and FLANIGAN, J. biol. Chem. **114** (1936) 95.

Außerdem können die Proteine in rein kohäsionsartige Verbindungen mit rein apolaren Stoffen eingehen. So z. B. mit Paraffinen, Benzol, Toluol usw.

Wir wollen in dieser Arbeit uns besonders mit den koordinationsartigen Verbindungen befassen und die in unserem Institut erhaltenen Resultate, die die Rolle der einzelnen Aminosäuren bei der Entstehung verschiedener Verbindungen nachweisen, besprechen.

Polysaccharo-proteide.

Wie bekannt, können die Polysaccharide in Ionen enthaltende, als Anionen dissoziierte sowie in von Ionen freie eingeteilt werden. Zu der ersten Gruppe gehören das P.-haltige Amylopektin, Glykogen, Inulin, zu der zweiten die durch Elektrodialyse gereinigte Amylose oder Dextrine.

Bald nach den ersten Versuchen überzeugten wir uns, daß diese zwei Polysaccharidarten, mit Proteinen vermischt, sich ganz anders verhalten. Die erhaltenen Resultate zwangen uns, die zwei Kohlehydratarten separat zu untersuchen.

Ionenfreie Polysaccharide.

Die ersten Versuche mit Amylose und Dextrin überzeugten uns, daß nicht alle Proteingele auf ihren Oberflächen Amylose oder Dextrin adsorbieren. Wir meinten, daß das verschiedene Verhalten nicht von den kolloidalen Eigenschaften abhängig ist (Teilchengröße, Teilchengestalt), vielmehr aber von der Konstitution, und zwar 1. der Zusammensetzung der Aminosäuren, 2. ihrer Anordnung im Proteinteilchen.

Zwecks weiterer Analyse haben wir die Versuche auf zwei verschiedene Arten ausgeführt.

Erstens wurden Versuche mit bestimmten Aminosäuren und synthetischen Di- und Polypeptiden ausgeführt.

In verschiedener Weise gelöste Aminosäuren oder bestimmte Baugruppen wurden mit Amylose oder Dextrin gemischt, dann im Solzustande polarimetrisch, refraktometrisch, kataphoretisch oder kryoskopisch, endlich unter Anwendung der Ultrafiltration untersucht. In vielen Fällen wurden die Aminosäuren bzw. bestimmte Baugruppen mit Amylose oder Dextrin ausgefällt und der Niederschlag analysiert oder die Konzentration der in Lösung gebliebenen Polysaccharide mit der Kontrolle verglichen.

Tabelle 1.
Versuche mit reinen Aminosäuren.

Aminosäure	$\Delta\alpha_D$		Ausfällungen der Aminosäure		Kataphorese d. Amylose mit der entsprechenden Aminosäure vermischt	Ultrafiltration	Änderung der Δ
			Polysaccharide, gefunden in dem Niederschlag in %				
	pH 4	pH 7-8	durch pH	durch T ⁹			
Glycin-Leucin	0	0	(+)0'5-2	0'5-1'7			0
Cystin	—	—	3	1'7			
Asparaginsäure	0	0	2'0-3'0	2'0-3'0			
Glutaminsäure	0	0	1'7-3'6	1'8-2'8			
Asparagin	0	0	—	1'8-2'7			0
Phenylalanin	0	0	1-3	1'7-3'6			
Tyrosin		pH > 8.0	20-40	—			
Arginin	0	-0'4	> 80	+			
Guanidin		-0'15	> 80	+	kathodisch		+
Kreatin	0	0	—	—			
Kreatinin	0	0	60	+			
Lysin	0	0	—	—			
Histidin	0	0	—	—			
Oxyprolin	0	0	—	—			
Glycinanhydrid	—	—	2-3	0'6-1'3			
Glycyldiglycin	0	0	—	—		0	
Pentaglycylglycin	—	—	1'7-2'9	1'8-2'4		0	
Glycyltyrosin	0	0	—	—		+	
Tryptophan	—	—	0	0			
Skatol	—	—	0	0			

Die erhaltenen Resultate²⁴ sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt und können folgenderweise zusammengefaßt werden: 1. Glycin, Alanin, Valin, Leucine, Phenylalanin, Prolin (apolare Reste) treten mit ionenfreien Polysacchariden nicht in Bindung. 2. Asparaginsäure, Glutaminsäure und Asparagin verhalten sich identisch. 3. Dasselbe kann von dem Cystin, Tryptophan, Lysin, Histidin und Oxyprolin gesagt werden. 4. Ganz ähnliche Resultate wurden bei der Analyse des Verhaltens der CONH-Gruppe erhalten. Das in liebenswürdiger Weise uns durch Herrn Geheimrat ABDERHALDEN gelieferte Pentaglycyl-glycin, das Leucyl-glycyl-glycin, Glycyl-glycin und Glycinanhydrid beweisen, daß in keinem der untersuchten

²⁴ v. PRZYLECKI, MAJMIN, MYSTKOWSKI, RAFALOWSKA, KRASNODEBSKI, GIEDRYĆ, СИХОСКА, Biochem. Z. 277, 280, 281 (1935), 284 (1936).

Fälle zwischen der CONH-Gruppe und dem Polysaccharid eine Bindung entstehen kann.

Eine ganz ausgesprochene Ausnahme bildeten in dem Verhalten gegen nichtionisierte Polysaccharide das Tyrosin und das Arginin sowie das Guanidin und Kreatinin.

Das Tyrosin, in Lauge gelöst und mit Amylose oder Dextrin gemischt, dann durch Ansäuern ausgefällt, enthält im Niederschlag 20 oder 40 % Polysaccharid. Das Ergebnis wurde sowohl nach der Methode PFLÜGERS, als auch polarimetrisch bewiesen. Die Kristalle des Komplexes enthalten das Polysaccharid im Innern der Kristalle, indem sie mehr oder weniger regelmäßig eingelagert sind.

Die röntgenoskopischen Untersuchungen, die mit Frl. KOLACZKOWSKA²⁵ ausgeführt wurden, zeigten, daß die Kristalle von Dextrin-Tyrosin, Amylose-Tyrosin oder Stärke-Tyrosin von der Kontrolle des reinen Tyrosins abweichen. Die kristallinische Natur des Komplexes ist stark vermindert.

Die zweite Aminosäure, die mit Amylose reagiert, ist das Arginin. Sowohl Arginin als auch Guanidin oder Kreatinin, mit Amylose oder Dextrin gemischt, geben bei bestimmten p_H Komplexe, dessen Drehwerte sich nicht als Summe der Komponenten ergibt. Von einer bestimmten Konzentration der Komponenten an entstehen bei höheren p_H Niederschläge, obwohl die Komponenten bei der großen p_H -Skala 1 bis 14 nicht ausfällbar sind. Mit Guanidin entsteht der Niederschlag nach einigen Minuten. Mit Arginin und Kreatinin erfolgt die Ausfällung viel langsamer. Nach einigen Tagen entsteht eine schwache Trübung und nach 7—10 Tagen sinkt der Niederschlag zu Boden. Die Systeme, ultramikroskopisch untersucht, zeigten schon nach 12—24 Stunden eine Entstehung von sichtbaren Micellen. Die Koagulation erfolgt bei niederen Temperaturen von 0—1—2° viel leichter als bei Zimmertemperatur.

Die mit den Aminosäuren und Peptiden erhaltenen Resultate beweisen somit, daß von den vielen Seitenketten und der Bindegruppe, die das Proteinteilchen bilden, nur das Arginin und das Tyrosin mit Amylose oder Dextrinen in Bindung treten können. Alle anderen untersuchten Gruppen gaben ein negatives Resultat. Von den vielen bekannten Aminosäuren können wir leider noch keine bindenden Schlüsse über die Affinitäten zwischen Serin, Oxyprolin und Oxybutyrin zu Polysacchariden ziehen.

²⁵ M. KOLACZKOWSKA und v. PRZYLECKI, unpubliziert.

Unsere Versuche, die negative Resultate gaben, sind methodisch zu einseitig, um ganz zwingend zu sein.

Wir waren uns voll bewußt, daß ähnliche Untersuchungen mit freien Aminosäuren nicht genügen, um einen sicheren Schluß über das Verhalten der Aminosäurereste im Proteinteilchen selbst zu ziehen. Die freien Aminosäuren, besonders diejenigen, die leicht kristallisieren, können im Proteinteilchen mehr reaktionsfähig werden. Außerdem sind letztere frei von COOH- und NH₂-Gruppen, die die Bindegruppe CONH bilden. Weiter können die Nachbargruppen die Affinität der einzelnen Gruppen verstärken oder vermindern.

Außerdem können die erhaltenen Resultate aus folgenden Gründen nicht als zwingende aufgefaßt werden: 1. Nicht alle Aminosäuren der Proteine sind bekannt; 2. außer Aminosäuren enthalten die Proteine verschiedene prosthetische Gruppen und Verunreinigungen.

Deshalb wandten wir uns zu der zweiten Versuchsart²⁶, und zwar zu dem Verhalten der einzelnen Proteine gegen Polysaccharide, indem solche Eiweißkörper gewählt wurden, deren Zusammensetzung ziemlich gut bekannt ist und die durch ihren Bau besonders zu solchen Versuchen geeignet sind; das sind solche, die eine bestimmte Aminosäure in großen Mengen, andere *unsichere* auf Grund ihres Verhaltens nur in geringen Mengen enthalten.

Es wurden folgende Eiweißkörper untersucht: 1. Ovalbumin, 2. Serumalbumin, 3. Lactalbumin, 4. Pseudoglobulin, 5. Euglobulin aus Serum, 6. Ovoglobulin, 7. Casein, 8. Fibroin, 9. Edestin, 10. Globin, 11. Histon aus Blutkörperchen, 12. Fibrin, 13. Gelatine, 14. Myosin, 15. Clupein.

Die Tabelle 2 gibt die Zusammensetzung einiger untersuchter Proteine und die Tabelle 3 das Verhalten der einzelnen Proteine gegen Polysaccharide.

Die Proteine können in bezug auf ihre Affinität zu den nichtionisierten Polysacchariden in zwei Gruppen geteilt werden:

1. Keine bzw. fast keine Affinität haben Ovalbumin, Lactalbumin, Pseudoglobulin, Globin, Histon aus den roten Blutkörperchen der Gänse.

²⁶ v. PRZYLECKI, DOBROWOLSKA, FRAJBERGER, MAJMIN, GIEDRYĆ, GRYNBERG, BARTUSZEK, Biochem. Z. **240** (1931) und weitere v. PRZYLECKI, KASPRZYK, RAFALOWSKA in Biochem. Z. in Druck, JANICKI und KASPRZYK, J. Biochem. in Druck.

	I		II		III		IV	
	Ovalbumin		Serum- albumin		Lactalbumin		Casein	
Glycin	0				0'37	—	0'45	
Alanin	2'22	2'1	2'68	4'2	2'50	2'5	1'85	1'5
Serin			0'60	0'6	1'76	1'76	0'50	0'50
Valin	2'50	2'5			3'30	0'9—1'4	7'93	7'2
Leucin	10'71	6'1	20'00	30'0	19'40	19'4	9'70	9'4
Prolin	3'56	2'3	1'04	2'3	4'0	4'0	8'7	6'7
Oxyprolin				1'0		—	0'23	0'2
Phenylalanin	5'07	4'4	3'08	4'2	2'4	2'4	3'88	3'2
Methionin	—		—		—	—	0'40	
Cystin	0'88	0'3	6'04	7'1	4'25	+	0'26	
Tryptophan	1'23	2'6	0'53	1'4	2'69	7'0	1'54	2'0
Tyrosin	4'10	1'1	4'65	5'8	1'95	3'7	5'36	4'5
Histidin	1'71	0'7	3'40	3'7	2'61	1'6	2'50	3'8
Arginin	4'91	2'4	4'90	4'7	3'47	1'6	3'81	3'8
Lysin	3'76	3'2	13'20	11'3	9'89	7'7	8'38	8'4
Aspariginsäure	6'22	1'5	3'12	4'4	9'30	9'3	4'10	1'4
Glutaminsäure	13'27	9'1	1'52	7'7	12'89	10'1	21'77	15'6
β-Oxyglutaminsäure					10'00	10'0	10'50	
Summe	61'48	39'8	66'05		92'09		93'47	69'8

a-

Bindung Amylose oder Dextrin

Die Zahlen (in g) entsprechen der ge-

PH	Ovalbumin	Serumalbumin		Lactalbumin	Pseudo- globulin	Euglobulin		Ovoglobulin
		entfettet	nicht entfettet			entfettet	nicht entfettet	
4	0	4'8	4'6	0	< 1			8—9
5	0	4'6		0	< 1	> 9'0	> 9'0	—
7'5	0	3'6		0	< 1	> 8'0		8—9
8—9	0							
Molgewicht	34.500	67.500				103.800		?
Gestalt . . .	k.	L. F.		12 bis 25.000		L. F.		?

k. = kugelig.

L. F. = lange Faden.

belle 2.

V		VI	VII		VIII		IX		X
Gelatine		Fibroin	Serum-globulin		Edestin		Globin		Clu-pein
25'50	25'5	40'50	3'52	3'5	3'8	3'8			
8'70	8'70	25'00	2'22	2'2	3'6	3'6	4'19	4'19	
0'40	0'40	1'8			0'33		0'56	0'56	
0	—					6'2		1'00	4'30
7'10	7'1	2'5	18'70	18'7	20'90	14'5	29'04	28'04	
9'50		1'0	2'76	2'5	4'10	1'7	2'34	2'3—4'5	
14'10	14'1				2'00		1'04	1'04	+
1'40	1'40	1'5	3'84	2'7	3'09	2'4	4'24	4'2—5'0	
+					+		—		
0'18			0'67	4'1	1'36		—	0'31	
0			2'28	4'0	1'46		2'61	3'6	
0		11'0	6'70	6'6	4'55	2'1	4'63	3'5—4	
2'94	0'9	0'75	2'80	1'7	2'85	4'0	10'96	10'96	87'40
8'22	8'2	1'50	3'90	4'5	15'76	15'8	5'42	5'42	
5'92	5'9	0'85	8'50	6'8	3'58	3'9	4'28	10'5	
3'40	3'4		2'54	2'5	10'19	4'5	4'43	4'43	
5'80	5'8		2'20	8'5	19'16	14'5	1'73	1'73	
					0				
93'56	91'3	86'40	62'38	70'1	99'00		75'47		

belle 3.

durch verschiedene Proteine.
 bundenen Menge auf 100 g Protein.

Edestin		Fibroin	Casein		Globin	Histon aus Blutkörperchen	Fibrin	Gelatine	Myosin	Clu-pein
entfettet	nicht entfettet		entfettet	nicht entfettet						
0			3'6	3'1	0		0	0		0
1—3		9'2			0	0	0	0	+	0
10'0		8'5	3'5	3'2	0	0	+	+	32	+
15'6	12'7				0	0	+	+	32	70—80
208.000		?						ca. 20.000	100.000	4000
k.									L. F.	

2. Viele Proteine geben mit Polysacchariden symplexartige Verbindungen. Zu ihnen gehören Euglobulin, Ovoglobulin, Fibroin, Gelatine, Fibrin, Edestin und Myosin.

3. Das Serumalbumin und das Casein bilden eine Übergangsgruppe. Ihre Fähigkeit, Polysaccharide zu binden, ist sehr gering.

Die Ergebnisse können somit in folgenden Punkten zusammengefaßt werden:

I. Die Entstehung der Symplexe ist in keinem Falle von der Teilchengröße und der Teilchengestalt abhängig (Tabelle 3).

II. Die Bindungsfähigkeit kann nicht durch Verunreinigungen verursacht werden (Tabelle 3).

Für eine ganze Reihe von fast reinen Proteinen wurde die Bildung von Polysaccharoproteiden nachgewiesen, so z. B. für das reine Clupein, Edestin und das Euglobulin.

III. Folgende Aminosäurereste spielen bei der Entstehung der Symplexe keine Rolle:

a) Die apolaren Gruppen, also die Reste von Glycin, Alanin, Butyrin, Valin, der Leucine, des Phenylalanins und Prolins. Proteine, die große Mengen dieser Aminosäuren enthalten, sind Repräsentanten der zur Symplexbildung unfähigen Gruppe, so z. B. das Lactalbumin, Globin, Ovalbumin.

b) Auch die Reste der sauren Aminosäuren: Asparaginsäure, Glutaminsäure und Oxyglutaminsäure. So bilden z. B. im Lactalbumin die sauren Aminosäuren 32·2% und die Oxyglutaminsäure 10% des Proteins.

c) Cystin bzw. Cystein. Dieses kommt in größter Menge im Lactalbumin vor.

d) Das Serin ist in größter Menge im Lactalbumin vorhanden.

e) Das Tryptophan kommt in den zur Symplexbildung unfähigen Proteinen in viel größerer Menge vor als bei den symplexbildenden.

f) Das Histidin, das besonders in großer Menge im Globin vorkommt.

g) Das Lysin, das in größter Menge im Lactalbumin (10%), Seralbumin (> 15%) und Globin (11·05%) vorkommt.

h) Asparagin, Glutamin und Oxyglutamin.

j) Die CONH-Gruppe, die in allen Proteinen vorhanden ist.

IV. Unsicher bleibt die Rolle von: a) Oxyprolin, b) Methionin, c) Aminosäuren, deren Vorhandensein erst in der letzten Zeit nachgewiesen wurde oder noch unsicher ist.

V. Sicher wurde die positive Rolle von Tyrosin und Arginin nachgewiesen. Nur diejenigen Proteine, die viel Tyrosin oder Arginin enthalten, sind fähig, Symplexe zu bilden.

Zu den durch Tyrosin bindenden Proteinen gehören Euglobulin, Fibroin, Casein und wahrscheinlich auch das Seralbumin. Das Arginin spielt bei dieser Bindung keine Rolle.

Die zitierten Proteine geben Symplexe mit Polysacchariden bei einem p_H , bei denen der Argininrest zur Reaktion unfähig ist (Fig. 2). Weiter ist der Gehalt dieser Proteine an Arginin sehr gering.

Der p_H -Bereich, bei dem Symplexe durch Tyrosin entstehen, ist ziemlich groß (p_H 3—9). Diese Verbindungen sind sehr labil und können durch Auswaschen oder Verdünnung der Systeme zerlegt werden.

Zu den durch das Arginin Polysaccharide bindenden Proteinen gehören Edestin, Vitellin, Gelatine, Clupein, Fibrin. Interessant ist die ziemlich gute Proportionalität zwischen dem Arginingehalt im Protein und der maximalen Bindungsfähigkeit von Amylose oder Dextrin.

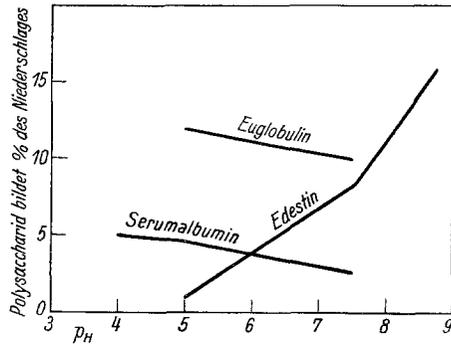


Fig. 2.

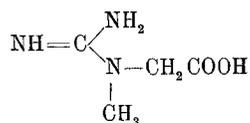
	Clupein	Edestin
% Arginin	87	15.8

Im Symplex.

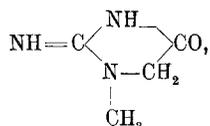
% Polysaccharid	70—80	19.6
---------------------------	-------	------

Bei den erwähnten Proteinen kann das Oxyprolin keine größere Rolle spielen. Die Gelatine, die im Vergleich mit Clupein und Edestin viel mehr Oxyprolin enthält (14%), bindet viel weniger Polysaccharid als die erwähnten Eiweißkörper. Die durch Arginin bedingte Symplexbildung tritt nur bei denjenigen p_H -Werten ein, bei welchen die Argininreste in der undissoziierten Form vorhanden sind. Je mehr Arginin im Teilchen, desto niedriger kann der p_H -Wert sein, bei dem Symplexe entstehen. Das niedrigste p_H , bei dem Symplexe durch Arginin beobachtet wurden, ist 7. Der Vergleich der p_H -Grenzen, bei denen bestimmte Polysaccharide entstehen, kann als Hinweis, durch welche Aminosäure die Bindung zustande kommt, dienen.

Für einige Proteine konnte die Art der bindenden Gruppe noch nicht bestimmt werden. Dazu gehören das Myosin, Fibrin, teilweise das Serumalbumin. Die Analyse des Myosins und vieler anderer Proteine ist noch zu unvollständig. Der p_H -Bereich und die Menge von Tyrosin machen es wahrscheinlich, daß in dem Myosin die zwei Aminosäuren Arginin und Tyrosin bei der Entstehung der Symplexe beteiligt sind. Die erwähnten Verbindungen sind nicht salzartiger Art, auch nicht kovalenzartiger. Es ist heute ganz sicher, daß die Verbindungen zwischen ionenfreien Polysacchariden und Proteinen koordinationsartige Molekülverbindungen sind. Das Tyrosin gibt Komplexe, in welchen die Hydroxyl-Gruppe, besonders der Wasserstoff dieser Gruppe, die hervorragende Rolle spielt. Schon das Phenylalanin gibt keine Symplexe mehr. Ganz anderer Art ist die Bindung von Arginin mit Polysacchariden. Verschiedene Stoffe, die untersucht worden sind, und zwar das Arginin, Guanidin, Kreatin, Kreatinin, Lysin, Histidin, Diphenylamin usw., zeigten, daß sowohl eine freie NH_2 -, NH -, $HC \begin{smallmatrix} \diagup N \\ \diagdown N \end{smallmatrix}$ -Gruppe allein nicht genügt, um den Komplex zu bilden. Auch die Gruppe



ist schon unfähig, einen Komplex zu bilden. Das Kreatinin



das keine COO -Gruppe enthält, gibt entsprechende Verbindungen. Es hat den Anschein, als ob die NH_2 - oder NH -Gruppe, die einen Teil des Guanidinrestes oder sein Derivat bildet, und zwar mit dreiwertigen N, also mit einsamen Elektronenpaaren, die Hauptrolle bei der Bindung spielt. Das Kreatin, das eine COO -Gruppe enthält, enthält die $=C \begin{smallmatrix} \diagup NH_2 \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ -Gruppe, die noch bei hohen p_H dissoziiert ist. Nur bei höheren p_H , in welchen ein Teil der Argininreste undissoziiert ist, entstehen entsprechende Komplexe. Die Tatsache, daß das Clupein schon bei p_H 7, das Edestin aber bei höheren p_H 8—9 Komplexe geben, beweist, daß die Komplexentstehung nicht von der Prädissoziation der Polysaccharidgruppe abhängt, vielmehr aber von der Dissoziation der Argininreste. Im Clupein

sind die Abstände zwischen Argininresten ca. $3\cdot5 \text{ \AA}$, im Edestin aber 10—20mal größere. Ein schöner Beweis, wie stark die Reaktionsfähigkeit bestimmter Gruppen im Protein von den Nachbargruppen abhängt. Die weit voneinander entfernten Argininreste im Edestin verhalten sich wie einwertige Basen, die nebeneinander liegenden Argininreste im Clupein beeinflussen sich aber gegenseitig.

Das weitere Problem ist: Existieren solche Komplexe auch im Solzustande? Wir können auf diese Frage eine positive Antwort geben. Sowohl die Untersuchungen, die mit Aminosäuren als auch mit Protein ausgeführt wurden, zeigten, daß die Komplexe in Systemen, in welchen alle Komponenten im Solzustande anwesend sind, existieren.

Als Beweis dienen: 1. Die Versuche mit Amylose- oder Dextrinlösungen, zu denen Arginin oder Clupein zugesetzt wurde. Es entsteht ein Komplex, der bei bestimmten p_H unlöslich ist und als Niederschlag zu Boden sinkt. Bei entsprechendem p_H und Komponentenkonzentrationen bleibt das Symplex in Lösung. Seine Existenz kann durch physikalische oder physiko-chemische Methoden (Polarimetrie, Kryoskopie) nachgewiesen werden.

2. Die nephelometrischen Untersuchungen mit Solen von Serumglobulin und Glykogen oder Stärke oberhalb des J. P. ²⁷.

3. Die ultrazentrifugalen Untersuchungen, die E. MYSTKOWSKI ²⁸ in dem SVEDBERG'schen Institut in Upsala ausgeführt hat. In Übereinstimmung mit unseren Annahmen beobachtete er, daß die Albuminfraktion keine Affinität zu Glykogen besitzt. Im Gegensatz dazu bindet die Globulinfraktion des Serums das Glykogen. Diese Beobachtung wurde durch Versuche mit gereinigtem Serumglobulin bestätigt. Die durch MYSTKOWSKI beobachtete Bindung ist in keinem Fall eine salzartige. Das gereinigte elektrodialysierte Glykogen enthält, wie die letzten Untersuchungen von PRINGSHEIM ²⁹ nachgewiesen haben, nur geringe Mengen P. (ca. $0\cdot1 \%$). Weiter wurden die Versuche bei Salzkonzentrationen ausgeführt, bei denen salzartige Verbindungen zwischen Protein und Polysacchariden ausgeschlossen sind. Die p_H -Werte, bei denen die maximale Bindung erfolgt, liegen oberhalb des J. P. des Proteins, unterhalb wurde keine Verbindung beobachtet. v. PRZYLECKI und GRYNBERG ¹² beobachteten aber, daß salzartige Verbindungen nur unterhalb

²⁷ v. PRZYLECKI, MYSTKOWSKI und ANDRZEJEWSKI, Kolloid-Z. **71** (1935) 325.

²⁸ Mündliche Mitteilung.

²⁹ H. PRINGSHEIM, *Extrait du bull. Soc. de Chimie biol.* **17** (1935).

des J. P. möglich sind. Für eine komplexartige Verbindung spricht auch das negative Resultat mit Albuminfraktion.

Die erhaltenen Resultate beweisen, daß die Polysaccharoproteide eine nicht einheitliche Gruppe bilden. Außer der Verschiedenheit in der Komponentenart (verschiedene Proteine und Polysaccharide) existieren Differenzen in der prozentigen Zusammensetzung. Es existieren z. B. Komplexe von Myosin-Glykogen oder Dextrin, deren Prozentverhältnisse M : G zwischen 20 : 1 und 1'5 : 1'0 variieren. Die Differenz in dem Verhältnis der Komponenten kann aber nicht als Beweis nichtkonstanter stereochemischer Verhältnisse dienen. Im Gegenteil können sie leicht erklärt werden durch die große Zahl derselben Gruppen im einzelnen Proteinteilchen, die mit Polysacchariden reagieren können.

Das Amylose-Clupein zeigt z. B. bei Erhaltung desselben p_H eine sehr konstante Zusammensetzung: 75—80 % Amylose und 20—25 % Clupein (Tabelle 4).

Tabelle 4.

System	Dextrin bildet % des Niederschlages
50 cm^3 0'5 % Clupein + 25 cm^3 4 % Dextrin	67 —71
50 cm^3 1'0 % „ + 25 cm^3 4 % „	66'7—70
50 cm^3 0'5 % „ + 50 cm^3 4 % „	71 —76
50 cm^3 0'5 % „ + 250 cm^3 4 % „	70 —73

Das Guanidino-Dextrin hat die Zusammensetzung 80—85 % Dextrin, 15—20 % Guanidin. Dasselbe Verhältnis wurde mit Amylose beobachtet. Das Molgewicht des Guanidins ist 59. Das Molgewicht der einzelnen Glukoseteilchen im Dextrin = 162. Das Gewichtsverhältnis der Komponenten ist 5'5 : 1'0. Das Verhältnis der Molgewichte = 1 : 2'75. Das Molverhältnis Guanidin : Glukosen = 1 : 2. Jedes Glukosemolekül der Amylose oder der Dextrine ist mit einem Guanidinrest verbunden. Es entsteht ein Komplex, der, wenn das Dextrinteilchen aus 12 Glukosen gebaut ist, 6 Guanidinreste enthält. Es hat den Anschein, als ob jedes Guanidinteilchen von einem bestimmten p_H an mit zwei Amylose- oder Dextrinteilchen reagieren kann. Das Guanidin dient als Kittsubstanz, indem es zwei lange Amylosefäden verankert. Die sich ziemlich symmetrisch wiederholende Anlagerung der Guanidinteilchen ermöglicht eine Micellenentstehung, die als unlöslicher, wenig Affinität zum Wasser besitzender Niederschlag zu Boden sinkt. Die parallelgelagerten Polysaccharidfasern verlieren ihre gute Löslichkeit in Wasser, in Säuren (auch $p_H < 1$) und alkali-

Selbstverständlich entstehen Salze nur bei pH -Werten, bei welchen das Protein positiv geladen ist. Wir konnten uns überzeugen, daß sowohl das Mg-Hexosediphosphat als auch Amylopektin Glykogen- oder Inulinverbindungen geben, und zwar mit Albuminen (Ovo-, Serum-, Lactalbumin), Globulinen, Edestin und Casein immer außerhalb des J. P.

Die bis jetzt erhaltenen Resultate erlauben uns, eine Klassifikation der Polysaccharoproteide vorzuschlagen:

I. *Rein komplexartige Verbindungen* = *Symplex-Polysaccharoproteide*.

Sie können vorläufig in a) *Tyrosin P. P.*, z. B. Serumglobulin-Dextrin,

b) *Arginin P. P.*, z. B. Clupein-Dextrin.

II. *Salzartige Verbindungen* = *Salz-Polysaccharoproteide*.

III. *Gemischter Typus I + II*.

Die zwei Typen unterscheiden sich nicht nur durch die Art der bindenden Kräfte und beteiligten Gruppen, sondern auch durch den räumlichen Bau der entstandenen Stoffe.

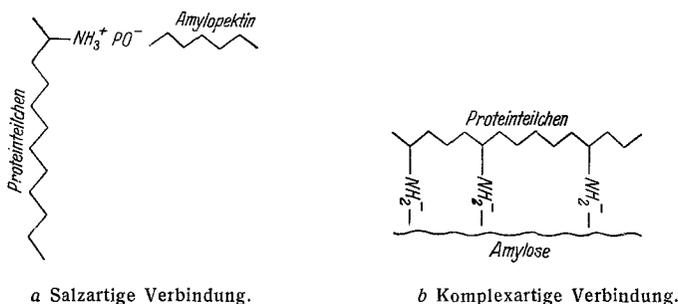


Abb. 3.

Die salzartigen Verbindungen sind wegen der geringen Menge der im Polysaccharid anwesenden ionisierten Gruppen miteinander nur durch einzelne Punkte verbunden. Z. B. nach HAWORTH³⁰ und besonders H. PRINGSHEIM²⁹ enthält eine Stärke oder Glykogenteilchen 1, maximal 2 P-Atome. Die Salz P. P. haben die Gestalt in Abb. 3 a).

Im Gegenteil sind die Symplex P. P. ganz anders gebaut (Abb. 3 b). Sowohl das Proteinteilchen als auch das Polysaccharid haben viele Gruppen, durch die sie sich binden. Deswegen entstehen Verbindungen, die nicht durch Punkte, sondern durch

³⁰ HAWORTH, J. chem. Soc. London 1935, 177.

Flächen verbunden sind. Wir konnten dies nephelometrisch und viscosimetrisch bestätigen²⁷.

Serumglobulin oder Gelatine mit Amylopektin geben bei p_H 3 Salze, dessen η viel höher ist als es der Summe der Komponenten entspricht. Nephelometrisch existieren bei p_H 3 mit Gelatine nur geringe Differenzen. Dies ist ganz verständlich. Durch Punkte verbundene Kolloide behalten den Trübungsgrad, der mit der Summe der Komponenten identisch ist. Die Viscosität der neu entstandenen Einheit muß aber diejenige der Summe der Viscositäten überschreiten, dank der Bildung langer Verzweigungen. Im Gegenteil haben Symplex P. P. wie Serumglobulin + Amylose bei p_H 7 eine Viscosität, die fast der Summe der Komponenten entspricht. Nephelometrisch bekommt man große Abweichungen von der Summation, die besonders von dem angewandten Polysaccharid abhängt.

Lipoproteide.

(Verbindungen mit Lipoiden und anderen, in organischen Lösungsmitteln löslichen Stoffen.)

Unsere Untersuchungen über diese große Gruppe umfaßten:

1. Aliphatische Kohlenwasserstoffe³¹,
2. aromatische Kohlenwasserstoffe³¹,
3. Fettsäuren^{15, 31, 32, 33},
4. Ester, besonders die biologisch wichtigen Fette^{31, 32, 33},
5. Phosphatide^{32, 33, 34},
6. Cholesterin^{32, 34}.

Die zwei ersten Stoffklassen geben mit Proteinen keine chemischen Verbindungen. Die Versuche mit freien Aminosäuren waren erfolglos.

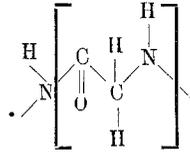
Mit einer Anzahl von Proteinen wurden positive Resultate mit der Adsorptionsmethode erreicht. Nicht alle Proteine werden aber auf den Oberflächen der Kohlenwasserstoffe adsorbiert. Die Adsorbierbarkeit hängt von der Zusammensetzung der Proteine ab und ist ziemlich proportional der Anzahl derjenigen Aminosäuren, die rein apolare Reste haben. In diesem Fall kann aber das Glycin nicht zu dieser Aminogruppe gezählt werden. Der Glycinrest hat die Gestalt

³¹ v. PRZYLECKI und GRYNBERG, *Biochem. Z.* **270** (1934) 203.

³² v. PRZYLECKI, FRAJBERGER und HOFER, *Biochem. Z.* **282** (1935) 362.

³³ HOFER in *Biochem. Z.* sowie v. PRZYLECKI und HOFER daselbst in Druck.

³⁴ Unpublizierte Versuche.



Die zwei C-Atome des Glycins enthalten polare Gruppen, und zwar die NH- und die CO-Gruppe. Glycin enthält kein C, an den sich apolare Stoffe anlagern können.

Die Adsorbierbarkeit ist desto größer, 1. je länger die Kette der apolaren Reste, 2. je mehr dieser Aminosäuren im Protein-

Ta-
(Die Zahlen entsprechen den Pro-

Adsorbieren	Ovalbumin			Serumalbumin		
	pH 3	pH 4, 7	pH 7	pH 3	pH 5	pH 7
Ligroin	30	69	46	—	—	—
Paraffin flüssig . .	17	57	14	35'1	0	64'0
Paraffin fest . . .	21	71'4	17'7	32'7	0	66'3
Oleinsäure	20	40	40	30	54	87
Caprylsäure				22		80
Stearinsäure a*	20	43	34	—	—	—
Stearinsäure b**	19	60	19'9	20'1	0	57
Ester	32	56	30	—	—	10
Oliveöl	42	52	8	31'2	42	51
Stearin a*	38	55	16			
Stearin b**	20	62	17			
Cholesterin	38'7	72	11	18'9	0	65'4

* a = Aufgelöste Stearinsäure bzw. Stearin auf Wasser ausgebreitet.

** b = Stearinsäure- bzw. Stearinsuspension gut gepulvert.

teilchen ist, 3. je näher sie nebeneinander liegen, 4. je ähnlicher ihre Länge, 5. je geringer die Ladung, 6. je kleiner die Hydratation, 7. je symmetrischer die Gestalt und 8. je länger das Proteinteilchen. Fast keine Adsorption wurde mit Gelatine und Casein, die wenig Leucine enthalten, beobachtet (Tabelle 5). Im Gegensatz dazu sind Ovalbumin, Serumalbumin, Lactalbumin, Edestin, Globin, Serumglobulin adsorbierbar.

Die Adsorbierbarkeit ist auch von dem pH abhängig³². Einige Proteine, wie z. B. das Ovalbumin, werden am besten beim J. P. adsorbiert. Das Serumalbumin wird am leichtesten ober-

halb, das Edestin aber unterhalb des J. P. adsorbiert. Es ist schwer, heute diese Unterschiede zu erklären. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß die Ladung der Proteinteilchen bei diesen Unterschieden eine große Rolle spielt. Das Serumalbumin enthält sehr wenige saure Aminosäuren. Oberhalb des J. P. werden die positiven Gruppen, die aus vielen Lysin- und Histidinresten bestehen, entladen — in die undissoziierte Form überführt. Deshalb ist die Anzahl der aufgeladenen Gruppen unterhalb des J. P. viel größer als oberhalb. Das Edestin enthält viele saure Aminosäuren, die meistens bei niederen p_H in undissoziierter Form anwesend sind. Ober-

belle 5.

zentzen des adsorbierten Proteins.)

Edestin		Gelatine			Casein		Pepton-Roche		
p_H 3	p_H 7	p_H 3		p_H 7	p_H 3	p_H 7	p_H 3	p_H 5	p_H 7
40	14	3		5	8	4	0	0	0
29	5	6		4	6	5	0	0	0
—	—	13'1	17'3	14	5	4	0	0	0
31	95	6'5		4'5	10	90	0		6'5
		6'0		40			1'4		44
17	66	13'9		51	7	46	0	0	41
31	6	12'8	11'1	14'9	6	4	0	0	0
52	80	2		4	12	30	—	—	—
67	90	4		2	7	40	0		18
—	—	—		—	—	—			
—	—	—		—	—	—	0	0	0
57	15	14'8		10	8	6	0	0	0

halb des J. P. sind sie alle dissoziiert. Auch die große Menge von Arginin bleibt weit oberhalb des J. P. in dissoziierter Form. Die Anzahl der geladenen Gruppen ist in Edestin größer ober- als unterhalb des J. P.

In allen beschriebenen Fällen erfolgt die Adsorption durch Kohäsion, durch Anlagerung der rein apolaren Kohlenwasserstoffreste der Aminosäuren an die Oberflächen der Kohlenwasserstoffe.

Eine spezielle Prädisposition der an Phenylalanin reichen Proteine zu aromatischen Verbindungen wie Benzol, Toluol wurde nicht konstatiert.

Eine Gruppe für sich bilden die ungesättigten Kohlenwasserstoffe, die dank der anwesenden Doppelbildungen größere Affinität zu Proteinen haben als die apolaren gesättigten Kohlenwasserstoffe.

Fettsäuren.

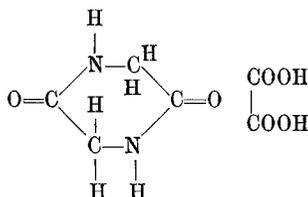
Diese Körperklasse kann in dreierlei Weise mit bestimmten Gruppen der Proteinteilchen reagieren¹⁵.

Die erste entspricht dem besprochenen Anlagern durch reine Kohäsionskräfte. Besonders im Fall von Adsorption an festen Fettsäuren, deren Oberflächen durch viele apolare lange Ketten belegt sind, kommt diese Form der Anlagerung zustande.

Mit Fettsäuren, die 1. in Wasser gelöst wurden, 2. in Lösungsmitteln, in welchen die Oberfläche aus polaren COOH-Gruppen gebildet ist, und 3. in konzentrierten Fettsäurelösungen oder mit reinen Fettsäuren, wie z. B. 95—100 % Essigsäure oder Buttersäure, treten die Proteine in ganz andere Verbindungen ein. Es entstehen 1. salzartige und 2. komplexartige Verbindungen. Salzartig gebundene Stoffe entstehen zwischen den basischen Aminosäuren, die eine dissoziierte NH₃- oder > NH₂-Gruppe enthalten (Arginin, Lysin, Histidin).

Diese Regel wurde sowohl durch Versuche mit reinen Aminosäuren¹⁵ wie auch mit Proteinen³³ bestätigt.

Die Fettsäuren bilden auch Verbindungen von ganz bestimmter Konstitution mit Stoffen, die eine CONH-Gruppe enthalten¹⁵. Das Glycinanhydrid z. B. löst sich in wasserhaltigen Fettsäuren und gibt mit der Oxalsäure eine Verbindung, die in kristallisiertem Zustand die Konstitution



hat. Das Asparagin gibt durch seine CONH₂-Gruppe nur sehr un-stabile und leicht zerlegbare Verbindungen.

Außerdem bilden die Fettsäuren, wenn sie in undissoziierter Form anwesend sind, komplexartige Verbindungen mit basischen Aminosäuren und Proteinen¹⁵.

Die Zusammensetzung der Verbindungen zwischen Lysin oder Histidin und Fettsäure entspricht dem Verhältnis 1:1 oder 1:2. Das Arginin bildet, besonders mit höheren Fettsäuren wie Oleinsäure, Komplexe, in welchen auf 1 Argininteilchen 6 bis 8 Fettsäuren entfallen.

Die Proteine geben mit Fettsäuren Verbindungen, in welchen der Prozentgehalt an Fettsäure bis 70% sein kann.

Die Fettsäuren geben somit sehr verschiedene Verbindungen mit Proteinen. Bei der Entstehung der Verbindungen sind sehr verschiedene Proteingruppen und Kräfte beteiligt, und zwar:

1. Rein apolare Gruppen,
2. CONH (vielleicht teilweise CONH₂),
3. undissoziierte NH₂- bzw. NH-Gruppen der basischen Aminosäuren,
4. dissoziierte NH₃- bzw. NH₂-Gruppen der basischen Aminosäuren.

5. Außerdem können die COOH-Gruppen bei Anwesenheit bestimmter Bedingungen (Katalysatoren) mit den OH-Gruppen des Oxyprolins, Serins, Oxybutyrins esterartige Verbindungen geben. Die Möglichkeit wurde experimentell untersucht.

Ester — neutrale Fette.

Sie enthalten 2 oder 3 Gruppen, die mit den Proteinen reagieren können, und zwar 1. die gesättigten Kohlenwasserstoffreste, 2. die ungesättigten Doppelbindungen, 3. die Estergruppen.

Die erste Gruppe reagiert mit den apolaren Aminosäureresten ähnlich den Kohlenwasserstoffen. Diese Adsorptionsart tritt besonders mit den in festem Zustande anwesenden Fetten ein, auf deren apolaren Oberflächen sich viele Proteine adsorbieren. Dieselben Regeln, die für Kohlenwasserstoffe beobachtet wurden, sind auch in diesen Systemen beobachtet worden³². Das Verhalten der ungesättigten Gruppen ist sehr wenig bekannt.

Die —COOC-Gruppen reagieren mit bestimmten polaren Aminosäuren. Die Löslichkeit der Aminosäure in Estern, z. B. in

Äthylacetat, ist sehr gering. Affinitäten zur $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{—C—O—C—} \end{array}$ Gruppe wurden für Arginin, Histidin, teilweise auch für saure Aminosäuren, Tyrosin, CONH- und OH-Gruppen beobachtet. Mit Proteinen wurden 1. Adsorptionsversuche³², 2. Bindung mit in Alkohol gelöstem Olivenöl³³ und 3. Bindung mit Äthylacetat ausgeführt³⁴.

Die Proteine sind überhaupt gut auf den Oberflächen der Ester adsorbierbar (Tabelle 5). Die viel basische Aminosäure enthaltenden Proteine, wie Clupein, Histon, Globin, Serumalbumin, Edestin, oder die viel Tyrosin enthalten, wie Serumglobulin, werden sehr gut adsorbiert.

Die gelösten Ester bilden mit Proteinen sogenannte Fettproteide. Auch in diesem Fall ist die gebundene Fettmenge von dem Gehalt an basischen Aminosäuren und Tyrosin, teilweise an sauren Aminosäuren abhängig. Es wurde die Reihenfolge Histon > Edestin > Serumalbumin > Ovalbumin beobachtet.

Somit wurden folgende Bindungsarten und Gruppenbeteiligungen bei der Entstehung der Fettproteide beobachtet:

1. Kohäsion durch reine apolare Gruppen,
2. komplexartige Verbindungen durch Arginin, Histidin, Lysin?, COOH-, CONH- und OH-Gruppen.

Phosphatide.

Die zwei Phosphatide Lecithin und Kephalin haben 5 Gruppenarten, die zu Proteinen Affinitäten besitzen, und zwar 1. die langen Reste der gesättigten Fettsäure, 2. die Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäure, 3. die Estergruppe, 4. der Phosphorsäurerest und 5. die organische Base.

Die drei ersten Punkte wurden schon besprochen. In den Phosphatiden sind durch die Anwesenheit der zwei stark polaren, bei bestimmten p_H -Grenzen geladenen Gruppen die Affinitäten der erwähnten Reste geändert.

Außerdem kann der Phosphorsäurerest in heteropolaren Verbindungen mit den basischen Aminosäuren, teilweise mit den CONH-Gruppen reagieren. Die organische Base reagiert bei bestimmten p_H -Werten als Kation, das mit den dissoziierten COO-Gruppen der sauren Aminosäuren salzartige Verbindungen gibt. Außerdem gibt sie mit den undissoziierten COOH-Gruppen der Proteine komplexartige Verbindungen.

Das Verhalten der Phosphatide zeigt, wie bunt das Reagieren einer organischen Substanz mit den Proteinteilchen sein kann. Es kann sowohl durch sehr verschiedene einzelne Gruppen als auch gleichzeitig durch mehrere verschiedene Gruppen in Bindung treten.

So z. B. können nicht weit von dem J. P. des Proteins und Phosphatides die COO- und NH_3 -Gruppen des Proteins mit den

NH₃- oder $\text{---}\overset{\text{O}}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3\text{---}$ und PO-Gruppen des Phosphatides bei der Bindung teilnehmen.

Die Phosphatide können mit Proteinen in folgender Weise verankert werden:

1. Durch Kohäsionskräfte,
2. koordinationsartig durch $\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}\text{---}\text{O}\text{---}\text{C}$ oder NH₂,
3. heteropolar durch PO- oder NH₃- bzw. $\text{---}\overset{\text{O}}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3\text{---}$,
4. außerdem bleibt die theoretische Möglichkeit einer Entstehung von kovalenzartigen Esterverbindungen durch POH mit OH des Oxyprolins, Serins und Oxybutyrins und NH₂ mit COOH der sauren Aminosäuren.

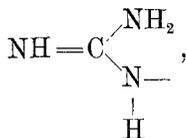
Cholesterin.

Sowohl dieses wie andere Sterine besitzen 1. apolare, 2. ungesättigte, 3. OH-Gruppen.

Die Rolle der zwei ersten Gruppenarten wurde schon wiederholt besprochen. Die OH-Gruppe im Cholesterin kann, wie wir uns überzeugt haben, mit den COOH-Gruppen der sauren Aminosäuren, mit der OH-Gruppe des Oxyprolins, Serins, sowie, wie es aus unseren bis jetzt durchgeführten Untersuchungen sehr wahrscheinlich ist, mit dem Arginin reagieren.

Somit gibt Cholesterin mit Proteinen:

1. Rein kohäsionsartige Anlagerungen durch apolare Gruppen,
2. durch Doppelbindungen enthaltende Gruppen,
3. koordinationsartige Verbindungen durch COOH, OH und



4. außerdem kann das Cholesterin Ester mit den COOH-Gruppen bilden.

Verbindungen mit Purinbasen, Nucleosiden und Nucleotiden.

Die Purinbasen³⁵ verhalten sich sehr verschieden, je nachdem ob sie Sauerstoff und den Guanidinrest enthalten.

³⁵ v. PRZYLECKI und GRYNBERG, Biochem. Z. 251 (1932) 248 und unpublierte Versuche.

Das *Adenin* ist eine ziemlich starke Base, deshalb ist sie geeignet, heteropolare Verbindungen zu geben.

Das Adenin besitzt im Vergleich mit Guanin in viel kleinerem Umfang die Eigenschaft, komplexartige Verbindungen zu geben, obwohl seine NH_2 - und $\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{N} \\ \diagdown \text{N} \end{array}$ -Gruppen reaktionsfähig sind. Diese Purinbase reagiert somit als Kation mit den COO -Gruppen. Sie bildet auch Komplexverbindungen mit OH - und undissoziierten COOH -Gruppen.

Das *Guanin* reagiert als Base viel schwächer, obwohl sie salzartige Verbindungen mit sauren Aminosäureresten geben kann.

Seine $\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{N} \\ \diagdown \text{N} \end{array} \text{NH}_2$ - und $\text{C}=\text{O}$ - bzw. $\text{C}-\text{OH}$ -Gruppen geben Symplexe mit Proteinen durch die OH -, COOH - und $\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{NH}_2 \\ \diagdown \text{NH} \end{array}$ -Gruppen der Eiweißkörper.

Die von NH_2 freien Oxypurine — Hypoxantin und Xanthin — geben mit den Proteinen keine eigentlichen heteropolaren Verbindungen. Sie bilden mit den Eiweißkörpern vielmehr komplexartige Verbindungen durch die $\text{C}=\text{O}$ - bzw. $\text{C}-\text{OH}$ - und $\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{N} \\ \diagdown \text{N} \end{array}$ -Gruppen.

Die Harnsäure reagiert erstens als Anion mit den basischen Aminosäureresten und gibt außerdem komplexartige Verbindungen, ähnlich wie die Oxypurine.

Die Nucleoside verhalten sich sehr verschieden in Abhängigkeit von der sie bildenden Purinbase³⁵.

Die *Mononucleotide* enthalten außer den erwähnten Gruppen noch den Phosphorsäurerest. Die PO -Gruppe gibt dem ganzen Molekül einen stark sauren Charakter. Deswegen ist die Rolle der Purinbase stark vermindert. So konnten z. B. keine Verbindungen zwischen Proteinen und den Purinbasen der *Mononucleotide* nachgewiesen werden.

Dasselbe kann von den Nucleinsäuren gesagt werden (S. 246).

Die bis jetzt in unserem Institut erhaltenen Resultate über die Verbindungen der Proteine und einzelner Aminosäuren mit verschiedenen Stoffen und über die dabei beteiligten Gruppen beweisen, wie bunt das Reagieren der Proteine ist, wie verschie-

denartig die beteiligten Gruppen sind, weiter wie verschiedenartige Kräfte die Komponenten verankern. Die Versuche zeigen, welche große Rolle bei dem Zustandekommen der Verbindungen die chemische Konstitution der Proteine spielt.

Nicht nur die Menge bestimmter Aminosäuren, sondern auch ihre Reihenfolge im Proteinteilchen ist sehr wichtig.

Besonders die Festigkeit und die Zerlegbarkeit sowie die Eigenschaften der Verbindungen sind von dem feinen Bau des Proteinteilchens abhängig.

Zusammenfassend können wir sagen, das Zustandekommen einer Verbindung zwischen einem Protein und einer bestimmten Substanz hängt ab von:

1. Der Anwesenheit ganz bestimmter Gruppen,
2. ihrer Anzahl,
3. ihrer Entfernungen,
4. dem Bau der Nachbargruppen, die eine verstärkende oder verhindernde Wirkung ausüben können,
5. den räumlichen Verhinderungen, z. B. durch lange apolare Seitenketten der Leucinreste.