

Chromophore Bindungssysteme im Aktomyosin.

(Kurze Mitteilung.)

Von

E. Bürgermeister und E. Schauenstein.

Aus dem Institut für Theoretische und Physikalische Chemie der
Universität Graz.

(Eingelangt am 17. Febr. 1949. Vorgelegt in der Sitzung am 24. Febr. 1949.)

Wie bereits in vorangegangenen Untersuchungen¹ gezeigt werden konnte, läßt sich das ultraviolette Absorptionsspektrum von Aktomyosin durch Superposition der Absorptionsbanden von l-Tyrosin und l-Tryptophan allein nicht deuten.

Vergleicht man nämlich das Spektrum des Aktomyosins und einer, dem Tyrosin- bzw. Tryptophangehalt des Proteins entsprechend zusammengesetzten Modellösung, so erhält man zwar eine befriedigende Übereinstimmung der Maxima bezüglich Wellenzahl und Intensität, findet aber im kurzwelligeren Spektralgebiet eine sehr beträchtliche Divergenz, hervorgerufen durch die durchwegs tieferliegende Modellkurve I.

Es tritt demnach im Spektrum des Aktomyosins eine zusätzliche Absorption auf. Bei Steigerung des p_H -Wertes zeigt diese im Gebiet von 3900 mm^{-1} ein Maximum, das bei $p_H = 9,0$ sehr scharf hervortritt und auch bei weiterer Alkalisierung im gleichen Spektralgebiet erhalten bleibt.

An den erwähnten, in allen p_H -Bereichen bestehenden Divergenzen zwischen Protein- und Modellspektrum ändert sich auch nichts Wesentliches, wenn der Modellösung die weiteren, im Ultraviolett absorbierenden Aminosäuren des Aktomyosins,² nämlich Phenylalanin und Histidin, zugesetzt werden, so daß eine Erklärung für das Zustandekommen der Zusatzabsorption in grundsätzlich anderer Richtung zu suchen ist.

Quantitative Untersuchungen der Intensität der Streustrahlung von Aktomyosinlösungen schließen einen *Tyndall*-Effekt als Ursache mit Sicherheit aus.¹

Die Annahme einer Eigenabsorption der normalen Peptidbindung wird sehr unwahrscheinlich sowohl auf Grund der Arbeiten von *Asahina* und *Shibata*³ als auch durch die Angaben von *Anslow* und *Nassar*,⁴ die dieser Bindung ein Maximum im Gebiet von 3580 mm^{-1} zuordnen. Dies ist fast genau das Absorptionsgebiet von Tyrosin und Tryptophan bis zu einem p_H von zirka 9 und damit aber — nach dem oben Gesagten — gerade jenes Frequenzbereich, in dem Modellspektrum I und Proteinspektrum miteinander übereinstimmen. Auch erweist sich beispielsweise das Spektrum von nativem Seidenfibroin als quantitativ identisch mit dem Lösungsspektrum von reinem l-Tyrosin.^{5, 6}

¹ O. Kratky, E. Schauenstein und E. Treiber, Mh. Chem. 78, 174 (1948). — E. Schauenstein und E. Treiber, J. Polym. Sci. 1949 (im Druck).

² Herrn Prof. Dr. K. Bailey, Cambridge, sind wir für eine briefliche Mitteilung seiner neuesten Analysenbefunde zu Dank verpflichtet.

³ T. Asahina und Y. Shibata, Bull. chem. Soc. Japan 2, 324 (1928).

⁴ G. A. Anslow und S. C. Nassar, J. opt. Soc. America 31, 118 (1941).

⁵ E. Schauenstein, J. O. Fixl und O. Kratky, Mh. Chem. 80, 143 (1949).

⁶ J. O. Fixl und E. Schauenstein, Mh. Chem. 80, 146 (1949).

Absorptionsmessungen an Glycyltyrosinanhydrid ergaben, daß im Spektrum dieser Verbindung gerade bei p_H -Werten zwischen 8,5 und 9,0 gleichfalls eine scharfe Differenzbande auftritt ($\nu'_{\max} = 4100$), die aller Wahrscheinlichkeit nach den bei der Enolisierung des Diketopiperazinringes sich ausbildenden Azomethingruppen zukommt. Setzt man nun der Modellösung statt des freien Tyrosins Glycyltyrosinanhydrid zu, so erhält man ein Modellspektrum II, das nicht nur die gleiche Bandenstruktur, sondern auch die ganz charakteristische p_H -Abhängigkeit des Proteinspektrums aufweist (s. Tabelle I).

Man entnimmt der Tabelle, daß das Modellspektrum II die typische flache Bande des Aktomyosins (von $p_H = 7$) zwar erst bei $p_H \sim 8,6$ erreicht, auf eine weitere Alkalisierung jedoch grundsätzlich analog anspricht. Im Hinblick auf die Mannigfaltigkeit anhydridartiger Bindungsmöglichkeiten stellt die hier zunächst vorgenommene Bindung lediglich der Tyrosinkomponente sicher nur eine sehr grobe Annäherung an die tatsächlichen Verhältnisse dar. Gerade dies läßt aber die beobachtete Analogie zwischen Proteinspektrum und Modellspektrum II als bemerkenswert gut bzw. die noch bestehenden Unterschiede als nicht mehr grundsätzlich erscheinen.

Um die Zuordnung des Zusatzchromophors weiter sicherzustellen, wurde versucht, die hierfür verantwortlich gemachten Bindungssysteme aufzuspalten. Dazu wurde Aktomyosin wie folgt behandelt:

1. Mit 0,1 n HCl bei 18° C,
2. mit 50%iger H_2SO_4 bei zirka 40° C,
3. mit 10%iger NaOH, 6 bis 8 Stunden gekocht.

Im Gegensatz zu dem „echten“ Diketopiperazinring im Glycyltyrosinanhydrid zeigte sich das chromophore Bindungssystem in allen drei Fällen resistent, konnte jedoch auf fermentativem Wege weitgehend abgebaut werden. Die zunächst durch Pankreatin bei 37° und p_H 7,8 6 bis 8 Stunden abgebaute Myosinlösung zeigt bei den p_H -Werten 7,8, 9,0 und 13 das mit den Resten der nicht abgebauten anhydridartigen Bindungen überlagerte Modellspektrum I der freien Aminosäuren. Der Abbau erfaßt rund 50% der zusätzlich absorbierenden Bindungen und würde *in vivo* zweifellos vollständig verlaufen.

Die bisherigen Ergebnisse lassen somit darauf schließen, daß die aromatischen Aminosäuren des Aktomyosins, abgesehen von der normalen Peptidbindung, anhydridartig an fermentativ aufspaltbare Ringsysteme gebunden vorliegen, die sich in ihren chromophoren Eigenschaften ganz analog wie im Glycyltyrosinanhydrid verhalten, von dem sie sich jedoch chemisch durch ihre Resistenz gegen Säuren und Alkali unterscheiden. Wie schon seinerzeit mitgeteilt, ruft eine Alkalisierung der Myosinlösung spektral den gleichen Effekt hervor, wie eine geringfügige Dehnung in

Wasser gequollener Myosinfilme. An Hand von Modellversuchen kann nachgewiesen werden, daß die in beiden Fällen auftretende Extinktionserhöhung im Gebiet von 4000 mm^{-1} und der hierdurch bewirkte völlig geradlinige Kurvenverlauf zwischen 3500 und 4100 mm^{-1} nur bei Anwesenheit der erwähnten Zusatzbindung auftritt, die hierbei eine Enolisierung erfährt. Diese kausale Verknüpfung mit dem intermolekular auftretenden Dehnungseffekt legt die Annahme nahe, daß es sich um anhydridartige Bindungen *zwischen* den Peptidketten handeln wird, in denen somit der eigentliche Träger des Dehnungseffektes zu suchen ist.

Über die Bedeutung der bei der Alkalisierung bzw. Dehnung ebenfalls eintretenden Verstärkung der phenolischen Dissoziation der Tyrosinmoleküle kann zur Zeit noch nichts Näheres ausgesagt werden. Die Untersuchungen werden fortgesetzt und in nächster Zeit ausführlich veröffentlicht werden.

Tabelle 1.

Aktomyosinspektrum				Modellspektrum II		
pH	$\Delta \log m$	ν'_{\max}	ν'_{\min}	ν'_{\min}	ν'_{\max}	$\Delta \log m$
7,3	0,14	3630	3980	4000	3630	0,35
8,4	$\sim 0,03$	3630	3900	4000	3630	0,16
8,6	$\sim 0,03$	3630	3900	3950	3630	0,14
9,0	$\sim 0,03$	3630	3900	3900	3630	0,04
13,0	0,04	3500	3700	3700	3500	0,04

Unter „ $\Delta \log m$ “ sind die Werte für $(\log m_{\max} - \log m_{\min})$ gemeint.
Die Fehlergrenze beträgt $\pm 0,03$ in $\log m$.

Über Quellung von vernetzter Polymethacrylsäure.

(Kurze Mitteilung.)

Von

J. W. Breitenbach und H. Karlinger.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 1. März 1949. Vorgelegt in der Sitzung am 10. März 1949.)

Als erstes Quellungssystem mit Wasser als Quellungsmittel haben wir vernetzte Polymethacrylsäure untersucht. Wir teilen hier das Ergebnis einiger orientierender Versuche mit.

Die Polymerisate wurden durch Benzoylperoxyd-Polymerisation von Methacrylsäure mit ganz geringem Zusatz (Größenordnung hundertstel Prozente) von p-Divinylbenzol erhalten. Die Quellung in Wasser erreicht zum Teil sehr beträchtliche Ausmaße. Wir haben Quellungen bis auf das 326fache Gewicht beobachtet; das heißt, die zwar sehr weiche, aber durchaus formbeständige Gallerte bestand hier zu 99,7% aus Wasser.