

Vitamin C durch ungenügende Zufuhr durch die Nahrung betrifft, sei auf die Tatsache verwiesen, daß der Krebs bei den orientalischen Völkern, die sich während des ganzen Jahres mit frischen Zitrusfrüchten und Gemüse ernähren und den Mindesttagesbedarf von 30 mg<sup>7</sup> leicht erreichen, viel seltener auftritt als bei den Völkern westlicher Zivilisation<sup>8</sup>.

Nach der kinetischen Betrachtungsweise des Verfassers besteht die Rolle des Aminopterin als Antagonist der Folsäure darin, daß Aminopterin die Bildung des CF aus Folsäure und damit die Entstehung des diazotierbaren carcinogenen Amins hindert.

Der Verfasser fühlte sich verpflichtet, durch diese Abhandlung auf die mögliche carcinogene Wirkung der durch Metabolismus entstehenden diazotierbaren Amine hinzuweisen; er ist sich bewußt, daß die kinetische Betrachtungsweise nicht ausreicht, das äußerst schwierige und vielgestaltige Krebsproblem zu lösen und hat daher in seinem Vortrage bei der Gesellschaft Deutscher Chemiker an der Technischen Hochschule Karlsruhe am 6. Juni 1957<sup>1/III</sup> die Errichtung von Studiengesellschaften für Krebsforschung angeregt.

Es sei an dieser Stelle den Herren Prof. Dr. A. Janke, Doz. Doktor R. Klemen und Doz. Dr. K. W. Kuchar für die leihweise Überlassung biochemischer Literatur bestens gedankt.

<sup>7</sup> Siehe L. F. Fieser und M. Fieser, Lehrbuch der organischen Chemie, übersetzt von H. R. Hensel, S. 561. Weinheim: Verlag Chemie. 1954.

<sup>8</sup> Siehe Cancerstatistik: H. Druckrey, Strahlentherapie **93**, 165 (1954). — B. Flaschenträger, Alexandria Med. J. **1**, 381, 402 (1955).

## Gestaltsbestimmung des Hämoglobinmoleküls mittels der Röntgen-Kleinwinkelstreuung

(Kurze Mitteilung)

Von

W. Kreutz und O. Kratky

Aus dem Institut für Physikalische Chemie der Universität Graz

(Eingegangen am 5. Februar 1958)

Kaum ein anderes Proteinmolekül hat so viele Untersuchungen zur Ermittlung seiner Gestalt veranlaßt, wie das des Hämoglobins. Wir verweisen vor allem auf die weit ausholenden Arbeiten der Bragg'schen Schule (Bragg, Perutz, Kendrew, Hovell<sup>1</sup>) sowie von Crick<sup>2</sup> über die

<sup>1</sup> L. Bragg und M. F. Perutz, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A **225**, 315 (1954). — Vgl. ferner die Zusammenfassung: J. C. Kendrew und M. F. Perutz, Ann. Rev. Biochem. **26**, 327 (1957).

<sup>2</sup> F. H. C. Crick, Acta Crystallogr. (London) **5**, 381 (1952).

Kristallstruktur dieser Substanz. Besonders erwähnt seien auch theoretische Betrachtungen von *Lein* und *L. Pauling*<sup>3</sup>, ferner Messungen der Viskosität und Untersuchungen mittels der Ultrazentrifuge von *Adair* und *Gutfreund*<sup>4</sup>. Bei alledem ist eine endgültige Klärung der Gestaltsfrage nicht erzielt worden, wenn auch hinsichtlich der Feinstruktur gewisse gesicherte Ergebnisse vorliegen.

Eingehende Studien der Kleinwinkelstreuung<sup>5</sup> von Kohlenoxyd-Hämoglobin-Lösungen<sup>6</sup> haben zunächst ergeben, daß zwischen 1- und 2proz. Lösungen innerhalb der Fehlergrenzen der Methode kein Unterschied zwischen den Streukurven feststellbar ist. Die Streukurven wurden in gewohnter Weise entschmiert<sup>7</sup> und nunmehr mit möglichst vielen verschiedenen theoretischen Streukurven verglichen. Entgegen allen an anderen Eiweißlösungen gewonnenen Erfahrungen gelang es aber nicht, die experimentelle Kurve auch nur mit *einer* theoretischen Streukurve<sup>8</sup> von kompakten Körpern zur Deckung zu bringen. Eine genäherte Übereinstimmung ist wohl bei eiförmigen, nicht sehr gestreckten Rotationsellipsoiden erzielbar, doch führt eine solche Zuordnung auf ein Volumen, welches etwa doppelt so groß ist wie das nach dem bekannten Molekulargewicht (66000 bis 67000 aus der Sedimentations- und Diffusionskonstanten) zu erwartende. Auch die Absolutintensität der Kleinwinkelstreuung (Quotient aus der durch Extrapolation gewonnenen Nullintensität und der integralen Intensität des Primärstrahls<sup>9</sup>) führt auf Molekulargewichte, die bei verschiedenen Auswertungen zwischen 65000 und 67000 liegen. Dieser Befund verstärkt aber zunächst die Diskrepanz gegenüber dem aus der Gestaltsbestimmung erschlossenen Volumen, so daß wir zur Konsequenz gedrängt

<sup>3</sup> *A. Lein* und *L. Pauling*, Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. **42**, 51 (1956).

<sup>4</sup> *A. Gutfreund*, in: Hämoglobin, herausgegeben von *F. J. W. Roughton* und *J. C. Kendrew*. London: Verlag Butterworth Sci. Publ. 1949.

<sup>5</sup> Zur Methodik der Auswertung vgl. *O. Kratky*, Z. Elektrochem. **60**, 245 (1956); die verwendete Kamera ist die „blendenstreuungsfreie“ Anordnung: *O. Kratky*, Z. Elektrochem. **58**, 49 (1954); Kolloid-Z. **144**, 110 (1955). — *O. Kratky* und *A. Sekora*, Mh. Chem. **85**, 660 (1954). — *O. Kratky* und *Z. Skala*, Z. Elektrochem., im Druck.

<sup>6</sup> Für die Präparierung und Überlassung der fertigen Lösungen sagen wir Herrn Prof. Dr. *E. Schultze* von den Behringwerken, Marburg/Lahn, und seinen Mitarbeitern auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank.

<sup>7</sup> *A. Guinier* und *G. Fournet*, J. physique Radium **8**, 345 (1947). — *J. M. W. du Mond*, Physic. Rev. **72**, 83 (1947).

<sup>8</sup> *G. Porod*, Acta Physica Austriaca **2**, 345 (1947). — Ferner *G. Beidl*, *M. Bischof*, *G. Glatz*, *G. Porod*, *J. Ch. v. Sacken* und *H. Wawra*, Z. Elektrochem. **61**, 1311 (1957).

<sup>9</sup> *O. Kratky*, *G. Porod* und *L. Kahovec*, Z. Elektrochem. **55**, 53 (1951). — *O. Kratky*, Z. Elektrochem. **60**, 245 (1956).

wurden, einen Körper mit Hohlräumen anzunehmen. Anregungen, die sich aus den Arbeiten der *Braggschen* Schule und von *Pauling* ergaben, führten zur Vermutung, daß die Struktur einem Hohlzylinder nahekommen müsse. *G. Porod* und *R. Oberdorfer* verdanken wir die Berechnung einer Schar entsprechender Streukurven, die einem neuerlichen Formvergleich zugrunde gelegt wurden. Im Bereich des Hauptmaximums besteht nun in einem bestimmten Variationsbereich der Abmessungen der Hohlzylinder gute Übereinstimmung mit dem Experiment. Wir bezeichnen die Radien des Hohlzylinders mit  $r_1$  und  $r_2$ , die Höhe mit  $h$ , das aus dem röntgenographischen Volumen und der Dichte  $d = 1,34$  berechnete Molekulargewicht mit  $M$  und stellen im folgenden so erhaltene Gestalten zusammen.

1.  $h : 2r = 1,3$ .

a)  $r_1 = 23 \text{ \AA}$ ,  $r_2 = 15 \text{ \AA}$ ,  $h = 60 \text{ \AA}$ ,  $M = 46000$ .

b)  $r_1 = 24 \text{ \AA}$ ,  $r_2 = 12 \text{ \AA}$ ,  $h = 62,5 \text{ \AA}$ ,  $M = 68000$ .

c)  $r_1 = 25 \text{ \AA}$ ,  $r_2 = 13 \text{ \AA}$ ,  $h = 65 \text{ \AA}$ ,  $M = 75000$ .

d)  $r_1 = 25 \text{ \AA}$ ,  $r_2 = 15 \text{ \AA}$ ,  $h = 64 \text{ \AA}$ ,  $M = 65500$ .

2.  $h : 2r = 1$ .

e)  $r_1 = 27 \text{ \AA}$ ,  $r_2 = 15 \text{ \AA}$ ,  $h = 54 \text{ \AA}$ ,  $M = 69000$ .

Wegen des nicht stimmenden Molekulargewichtes scheidet die Fälle a) und c) aus.

Nun gelang es, mittels der Zählrohrregistrierung ein schwaches Nebenmaximum einwandfrei festzustellen. Dieses steht mit den Fällen d) und e) in Übereinstimmung, während der Fall b) ein weiter außen liegendes Nebenmaximum erwarten läßt.

Die Zuordnung zu den in d) und e) angegebenen streuungsäquivalenten Idealkörpern war auf Grund des in Tabelle I gegebenen Vergleiches erfolgt. Dort sind die experimentellen Werte (der doppeltlogarithmischen Auftragung) den entsprechenden theoretischen Streukurven gegenübergestellt. Wir sehen, daß Übereinstimmung innerhalb der Fehlergrenzen besteht. Dies gilt auch für die sehr schwache Streuung im Bereich des Minimums und des Nebenmaximums, wo die experimentellen Werte wesentlich unsicherer sind als im Bereich des Hauptmaximums.

Bei der Wertung dieser Ergebnisse ist zu bedenken, daß sich nicht überblicken läßt, inwieweit die sicher vorhandenen Abweichungen des realen Moleküls von der Idealgestalt die Streukurven beeinflussen. Die zahlreichen durchgeführten Vergleiche bestärken uns immerhin in der

Tabelle 1. Vergleich der experimentellen Streuintensität  $\Phi$  mit den theoretischen Streukurven  $I$  für die unter d und e angegebenen Hohlzylinder. Bei logarithmischer Auftragung bestehen zwischen der experimentellen und theoretischen Kurve die Abszissendifferenzen  $\Delta_e$  bzw.  $\Delta_d$

$\mu$	e) $h:2r=1, \Delta_e=0,366$		d) $h:2r=1,3, \Delta_d=0,408$	
	$\log \Phi$	$\log I$	$\log \Phi$	$\log I$
0,5	0,9908—1	0,991—1	0,9883—1	0,987—1
1	0,9633—1	0,963—1	0,9531—1	0,953—1
2	0,8499—1	0,850—1	0,8078—1	0,808—1
3	0,6487—1	0,649—1	0,5477—1	0,547—1
4	0,3320—1	0,335—1	0,1296—1	0,130—1
5	0,8410—2	0,850—2	0,4260—2	0,413—2
6	0,0301—2	0,010—2	0,4967—3	0,715—3
7	0,8941—3	0,890—3	0,1987—2	0,256—2
8	0,3875—2	0,329—2	0,4735—2	0,431—2
8,625			0,517—2	0,451—2
9	0,5200—2	0,439—2	0,512—2	0,442—2
9,55	0,5310—2	0,447—2		
10	0,4850—2	0,437—2	0,36—2	0,340—2

Auffassung, daß die durch d) und e) gegebenen Gestalten als die Grenzformen des Variationsbereiches der möglichen Gestalten angesehen werden dürfen.

Die Ringdicke von etwa 10 bis 12 Å, die sich bei der Zuordnung von selbst ergeben hatte, stimmt mit dem Durchmesser der  $\alpha$ -Helix überein. Eine Lagerung der Helixachsen parallel zur Höhe des Zylinders kommt kaum in Betracht, weil der 1,5-Å-Reflex nach *Perutz* stark verbreitert ist, was auf eine Störung der idealen Lagerung der Helices hinweist. Es bleibt daher nur die Annahme eines Verlaufes der Helixachsen schief zur Zylinderachse. Die Hämgruppen sind dann aller Voraussicht nach in den Hohlraum gerichtet. Da die Hämgruppen eine Ausdehnung von zirka 10 Å haben, ergibt sich ein freier Hohlraum von zirka 10 Å, der tatsächlich mit den Aussagen des *Fourier*-Diagramms genügend genau übereinstimmt.

Eine ausführliche Mitteilung ist in Vorbereitung.

Wir möchten auch an dieser Stelle der *Rockefeller Foundation* unseren ergebensten Dank für die großzügige Unterstützung dieser Untersuchung durch die Beschaffung von apparativen Hilfsmitteln sagen und unserer Dankbarkeit für die Überlassung der Präparate durch Herrn Professor Dr. *E. Schultze* neuerlich Ausdruck verleihen.