

Die Unterscheidung einiger Eiweißstoffe auf katalytischer Grundlage nach einer Schnellmethode mit Hilfe von Promotorionen

(Kurze Mitteilung)

Von

Alfons Krause und Maria Bławačka

Aus dem Institut für Anorganische Chemie der Universität und dem Physiologisch-chemischen Institut der Medizinischen Akademie, Poznań

(Eingegangen am 31. Mai 1965)

Im Verlauf unserer Untersuchungen über das katalytische Verhalten von artverwandten anorganischen und organischen Verbindungen¹ haben wir eine katalytische Schnellmethode ausgearbeitet, nach der sich die folgenden, elektrophoretisch homogenen Eiweißstoffe unterscheiden lassen: 1. Edestin [(*E*), aus Hanf], 2. Albumin (*A*), 3. γ -Globulin (*G*) (beide aus Blutserum) und 4. Lactalbumin [(*L*) aus Kuhmilch]. Nur *A* war wasserlöslich, so daß dieses im homogenen, die drei anderen im heterogenen System als wirksam zu betrachten sind. Sämtliche Eiweißstoffe verhielten sich im H_2O_2 -Zerfall als Hemmungskörper, auch bei Gegenwart entsprechender Promotorionen. Die peroxidatische Indigocarmin-Entfärbung erlitt durch 1, 2, 3 und 4 ebenfalls eine starke Verzögerung, was durch photokolorimetrische Bestimmung der Extinktionswerte gezeigt wurde. Trotzdem gelang es, gerade im System Indigocarmin/ H_2O_2 , die genannten Eiweißstoffe mit Hilfe von ausgesuchten Promotorionen (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+}), die als prosthetische Gruppen zu bezeichnen sind, derart zu aktivieren, daß diese Zweistoffkatalysatoren, in ihrer Eigenschaft als sehr aktive Peroxidasemodelle, die Indigocarmin-Entfärbung ganz außerordentlich beschleunigten. Da Fe^{3+} zu schnell wirkt, arbeitet man vorteilhafter mit Cu^{2+} , da sich dann die individuelle Trägerwirkung der einzelnen Eiweißstoffe deutlich und dazu noch genügend kurzfristig abzeichnet. Auch der mögliche Einwand, die Eiweißstoffe könnten in

¹ A. Krause und J. Stawek, Z. anorgan. allgem. Chem. **331**, 350 (1964); A. Krause und E. Nowakowski, Mh. Chem. **96**, 300 (1965); A. Krause und P. Meteniowski, Naturwissensch. **52**, 158 (1965).

dem H_2O_2 -haltigen Medium chemisch verändert werden, ändert nichts an der Tatsache, daß man die Eiweißstoffe nach der angegebenen Schnellmethode auf katalytischer Grundlage unterscheiden und identifizieren kann (s. Tab. 1). Es ist erstaunlich, daß durch einen fast primitiven Eingriff, nämlich beim bloßen Auftragen des Cu^{2+} -Promotorions auf der Eiweißoberfläche, ein großer Vorrat an potentieller Energie geschaffen wird, der auf die Ausnutzung seitens der Substratmolekeln wartet. Man kann diese Tatsache nicht einfach dadurch erklären, daß das betr. Ion an der Trägeroberfläche adsorbiert wird, da von der Adsorption auch solche Ionen betroffen werden, die keine Promotorionen sind und auch keine Aktivierung hervorrufen. Vielmehr ist nach erfolgter Sorption mit tiefergreifenden Veränderungen zu rechnen, in deren Verlauf neue Radikalstrukturen in Form von unfertigen (ungesättigten) und daher energiereichen Komplexverbindungen aufkommen, deren z. T. ligandenfreie Stellen als Donatorradikale gedeutet werden, die für einen Elektronentransfer einsatzbereit sind². Die Indigocarmin-Entfärbung ist demnach wie der H_2O_2 -Zerfall eine Akzeptorkatalyse, deren Mechanismus bereits bekannt ist².

Nur muß man im vorliegenden Fall eine bestimmte Proportion von Eiweiß und Ion sicherstellen, damit das Experiment auch wirklich gelingt. Man nimmt daher, wie auf Grund von zahlreichen Versuchen ermittelt wurde, 10 mg Eiweiß, trägt 10^{-4} g Cu^{2+} oder 10^{-4} g Fe^{3+} (in 1 cm³ der betr. Nitratlösungen) auf und versetzt das Gemisch mit 50 cm³ H_2O_2 (0,6proz.) sowie mit 10 cm³ Indigocarminlösung (= 3,3 mg Farbstoff) bei 37°. Das einmal gründlich umgeschwenkte Reaktionsgemisch verbleibt zwecks Ermittlung der Entfärbungszeit ohne weitere Konvektion im Wasserthermostaten bei 37°. Aus Tab. 1 ist ersichtlich, daß A/Cu^{2+} mit 20 Min. Entfärbungsdauer an erster Stelle steht, wogegen L/Cu^{2+} mit 70 Min. verhältnismäßig am langsamsten arbeitet.

Tabelle 1. Peroxidatische Indigocarmin-Entfärbung (Schnellmethode) bei 37° an 10 mg Eiweiß bei Zusatz von 0,1 mg Cu^{2+} oder 0,1 mg Fe^{3+} . Angegeben ist die Entfärbungszeit in Min. Blindprobe (nur Indigocarmin + H_2O_2 ohne weiteren Zusatz): 570 Min.

<i>E</i>	<i>E</i> + Cu^{2+}	<i>E</i> + Fe^{3+}	<i>L</i>	<i>L</i> + Cu^{2+}	<i>L</i> + Fe^{3+}		
940	25	2	1170	70	10		
<i>G</i>	<i>G</i> Cu^{2+}	<i>G</i> Fe^{3+}	<i>A</i>	<i>A</i> + Cu^{2+}	<i>A</i> + Fe^{3+}	Cu^{2+} allein	Fe^{3+} allein
980	45	2	840	20	2	130	30

² A. Krause, M. Blawacka, J. Orlikowska, J. Stawek und S. Zieliński, Naturwissensch. **49**, 347 (1962); A. Krause, F. Domka und I. Plura, ibid. **50**, 518 (1963); A. Krause und E. Nowakowski, Z. Naturforsch. **19b**, 650 (1964).