

Zeitschrift: Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern
Band: 1 (1944)

Artikel: Zur Chemie und Kolloidchemie der Eiweissstoffe
Autor: Signer, R.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-319416>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 19.11.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

R. Signer

Zur Chemie und Kolloidchemie der Eiweissstoffe

(Vortrag

gehalten in der Berner Biochemischen Vereinigung
am 18. Mai 1943)

Einleitung

Die chemische Erforschung der Eiweissstoffe hat in den letzten vier Jahrzehnten verschiedene Stadien durchgemacht. Die systematischen Untersuchungen Emil Fischers um die Jahrhundertwende schienen das Problem der Konstitutionsermittlung der für die Organismen so wichtigen Verbindungsklasse einem raschen Ende entgegenzuführen. Nach seinem Tode folgte jedoch eine Zeit recht geringer Aktivität auf dem Gebiet der Eiweissuntersuchungen. Die Gründe hiefür sind wohl folgende: Einerseits kamen gerade bei den synthetischen Versuchen von E. Fischer die ausserordentlichen Schwierigkeiten auf diesem Gebiet klar zu Tage und andererseits fanden die organischen Chemiker viele biologisch bedeutungsvolle einfachere Verbindungen, die sich mit den vorhandenen Methoden leichter bearbeiten liessen als die Proteine. Einen neuen Auftrieb erhielt die Eiweissforschung vor etwa 20 Jahren von der inzwischen zu kräftigem Leben erwachsenen physikalischen Kolloidchemie her. Das letzte Stadium, in dem wir uns heute noch befinden, setzte etwa vor acht Jahren ein. Es wurde ausgelöst durch Ergebnisse der Biochemie, wonach alle lebenswichtigen Prozesse stofflich direkt oder indirekt an Eiweisse geknüpft sind. Die Erhärtung dieser Erkenntnis führte zu einer neuen Belebung der Proteinforschung. Man versuchte, die Ergebnisse der Einzelmethode zu vereinigen. In diesem Bestreben wurden in verschiedenen Ländern Aussprachen zwischen den Vertretern möglichst aller Forschungsrichtungen veranstaltet, bei denen die Proteine das Diskussionsthema darstellten. Hievon seien

erwähnt: Die dritte Frankfurter Konferenz 1938 über „Chemie und Physiologie des Eiweisses“¹⁾, das „Symposium on proteins“, Amsterdam 1938²⁾ und „A discussion on the protein molecule“, veranstaltet von der Royal Society of London im November desselben Jahres³⁾. Auch der in Bern im Rahmen der Berner Naturforschenden Gesellschaft im Sommer 1943 veranstaltete Vortragszyklus hat als Zielsetzung, die chemischen, physiologischen und medizinischen Ergebnisse auf dem Gebiet der Eiweissforschung zu vereinigen. Im ersten Referat kommt die Leistung der klassischen Konstitutionschemie und der Kolloidchemie zur Darstellung.

I. Ergebnisse der Konstitutionsforschung

1. Die Aminosäuren als Bausteine der Proteine.

Die alte Erkenntnis, dass die Aminosäuren die hauptsächlichsten Bausteine der Proteine darstellen, hat sich trotz aller gelegentlich geäußerten gegenteiligen Auffassungen immer mehr gefestigt. Dagegen sind die Schwierigkeiten beim quantitativen Erfassen der durch Hydrolyse aus Eiweissen entstandenen Aminosäuren noch längst nicht überwunden. Bei den wirklich kompliziert gebauten Proteinen, bei denen über 20 verschiedene Aminosäuren am Aufbau mitbeteiligt sind, gelingt es kaum, mehr als 80 oder höchstens 90 % des Hydrolysegemisches zu identifizieren. Auch das Heranziehen zahlreicher neuer Methoden, wie der Elektrophorese⁴⁾, der Chromatographie⁵⁾, der Fällung mit spezifischen Reagentien, gestattet noch nicht, das Problem befriedigend zu lösen.

Wie gross die Schwierigkeiten sind, geht aus dem Stand der aktuellen Frage hervor, ob in den Proteinen der Tumorzellen

¹⁾ Herausgegeben von R. Otto, K. Felix und F. Laibach. Verlag Steinkopff, Dresden und Leipzig, (1938).

²⁾ Abgedruckt im „Chemisch Weekblad“, 1939, und in Buchform publiziert durch Colloid chemistry section of the Nederlandsche chemische Vereniging, Eindhoven, Holland.

³⁾ Veröffentlicht in Proc. Roy. Soc. A 170, 40—79 (1939) und Proc. Roy. Soc. B 127, 1—40 (1939).

⁴⁾ Vgl. H. Theorell und A. Akesson, J. Amer. chem. Soc. 63, 1804 (1941).

⁵⁾ Vgl. G. Schramm und J. Primorigh, Berichte der deutschen chem. Ges. 76, 373 (1943) und Th. Wieland, Berichte der deutschen chem. Ges. 76, 823 (1943).

Aminosäuren spiegelbildlicher Konfiguration zu denen der normalen Zellen eingebaut seien. Trotz der Bedeutung dieses Problems für die Krebsforschung stehen sich die Auffassungen heute noch unvermittelt gegenüber. Der Entdecker der spiegelbildlichen d-Glutaminsäure aus Tumoren, F. Kögl, hält an seiner Auffassung fest⁶⁾; mehrere Forscher, unter andern Th. Wieland⁷⁾ sind überzeugt, dass auch in Krebsgeschwülsten nur die in gesunden Geweben vorkommende l-Konfiguration vorhanden sei. In unserm Zusammenhang muss festgestellt werden, dass Kögl nicht in der Lage ist, die d-Glutaminsäure rein zu isolieren; er kann nur aussagen, dass die von ihm isolierte Glutaminsäure aus Tumorgewebe einen geringeren Drehwert besitzt, als die aus normalen Gewebs-eiweissen isolierte l-Glutaminsäure. Er schliesst daraus, dass die Glutaminsäure aus Eiweissen der Tumorzellen auch spiegelbildlich gebaute Moleküle enthalten müsse.

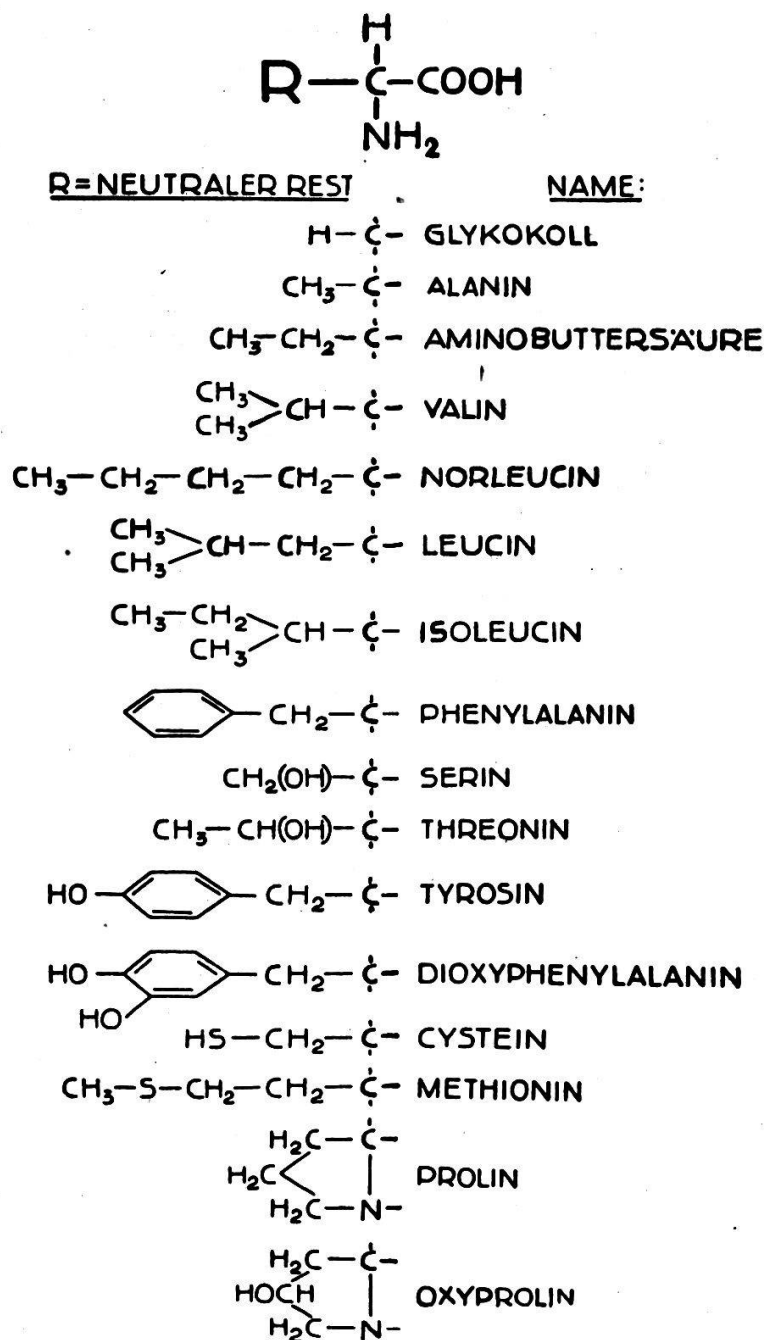
2. Die einzelnen Aminosäuren.

Die organisch-chemische Forschung hat mit Sicherheit etwa 25 verschiedene Aminosäuren in den Eiweisshydrolysaten nachweisen können. Von allen wurde die Konstitution sicher gestellt. Die meisten sind optisch aktiv, weil das Kohlenstoffatom, das die COOH-Gruppe trägt, vier verschiedene Liganden besitzt. Alle diese optisch aktiven Aminosäuren haben die gleiche räumliche Gruppierung am Asymmetriezentrum. Sie gehören also der gleichen Reihe an, nämlich der l-Reihe, wie durch umfangreiche Konstitutionsermittlungen festgestellt wurde. Die Tabelle 1 gibt einen Ueberblick über die Aminosäuren. Sie sind eingeteilt in neutrale, basische, saure Aminosäure und Moleküle mit Säureamidgruppen.

Eine der Verbindungen, das Cystein, ist schwefelhaltig. Sie ist ausgezeichnet durch leichte Oxydation zum Cystin, das zwei Moleküle Aminosäure mit einer -S-S-Brücke vereinigt enthält. Der Uebergang Cystein in Cystin verläuft schon unter der Wirkung von Luftsauerstoff. Er kann mit mässig starken Reduktionsmitteln rückgängig gemacht werden.

⁶⁾Vgl. Bemerkungen zu neueren Arbeiten über die Chemie der Tumoren, Naturwissenschaften 30, 46 (1942).

⁷⁾ Th. Wieland, Ueber die Glutaminsäure aus Tumoren, Berichte der deutschen chem. Ges. 75, 1001 (1942).

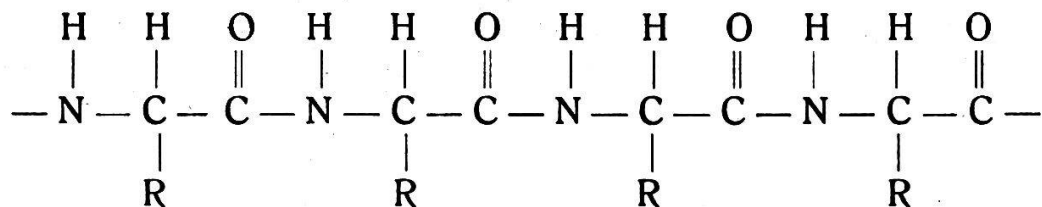
Tabelle 1. 1. NEUTRALE AMINOSÄUREN

Die Löslichkeiten aller Aminosäuren sind stark vom pH abhängig. Einige sind in Wasser extrem schwer löslich, so das Cystin, das Tyrosin und das Leucin. An chemischen Umsetzungen, die auch im biologischen Geschehen eventuell eine Rolle spielen, seien genannt die Decarboxylierung, welche zu Aminen führt, ferner die oxydative Desaminierung, welche α -Keto-Carbonsäuren liefert.

3. Die Verknüpfung der Aminosäuren.

Hofmeister und später Fischer haben bereits das Peptidverknüpfungsprinzip der Aminosäuren in dem Eiweissmolekül postuliert. Vgl. Formel 1.

Formel 1.



Zeitweise wurde dann ein Aufbau der Proteine aus kleinen Diketopiperazinmolekülen diskutiert. Danach sollten je 2 Aminosäuren unter Austritt zweier Wassermoleküle zu einem cyclischen Ringmolekül von 6 Gliedern zusammentreten. Diese kleinen Moleküle würden dann durch starke übermolekulare Kräfte das Eiweisskolloidteilchen aufbauen. Es ist besonders der verfeinerten Fermentanalyse gelungen, das Diketopiperazinbauprinzip zu widerlegen. Es zeigte sich nämlich, dass die Diketopiperazine im Gegensatz zu den Eiweissen und den Polypeptiden nicht fermentativ hydrolysierbar sind. Ebenfalls mit Fermentmethoden konnte die Frage gelöst werden, wie die basischen und die sauren Aminosäuren in das Eiweissmolekül eingebaut sind. Hiefür gibt es zwei Möglichkeiten. Asparaginsäure kann beispielsweise mit der α -ständigen oder mit der β -ständigen Säuregruppe in die Peptidkette eingebaut sein. Mit Modellversuchen an synthetischen Peptiden konnte festgestellt werden, dass gewisse Fermente die Asparaginsäure nur herauslösen, wenn die α -ständige Säuregruppe an der Peptidbildung beteiligt ist. Dieselben Fermente spalten auch aus den Eiweissen die Asparaginsäure ab. Hieraus kann geschlossen werden, dass dieselbe ebenfalls mit der α -ständigen COOH-Gruppe in das Molekül eingebaut ist⁸⁾. Das Kettenbauprinzip nach Formel 1 scheint also allgemeine Gültigkeit zu haben. Die basischen Gruppen der Reste R, bedingt durch den Einbau von Ornithin, Lysin und Arginin in die Peptidkette, scheinen in freier Form vorzuliegen^{9) 10)}. Die sauren Gruppen der

⁸⁾ Vgl. W. Grassmann und H. Bayerle, *Biochem. Z.* **268**, 214 (1934).

⁹⁾ Vgl. Skraup, *Monatshefte für Chemie* **27**, 631 (1906).

¹⁰⁾ Vgl. D. van Slyke und W. Birchard, *J. Biol. Chem.* **15** 539 (1914).

Reste R in der Asparagin- und Glutaminsäure sind teilweise als Säure-, andernteils als Säureamidgruppen vorhanden. Amidartige Brückenbindungen zwischen einzelnen Peptidketten über die seitenständigen Reste R scheinen nicht oder nur in geringer Zahl vorzuliegen.

Die Frage, in welcher Reihenfolge die Aminosäuren in einem bestimmten Eiweissmolekül aneinandergeknüpft sind, wird heute intensiv bearbeitet. Grosses Aufsehen hat die Bergmann'sche Hypothese erregt¹¹⁾. Sie stützt sich auf eine möglichst genaue Analyse der Aminosäuren im Hydrolysegemisch. Bergmann hat festgestellt, dass in einem bestimmten Eiweiss die Hälfte aller Bausteine Glycinmoleküle sind, $\frac{1}{4}$ aller Bausteine Alaninmoleküle, $\frac{1}{16}$ aller Bausteine Tyrosinmoleküle, während die restlichen Aminosäurenmoleküle zusammen noch $\frac{3}{16}$ aller Bausteine ausmachen. Bergmann ist nun der Auffassung, dass für diese Zahlenverhältnisse die höchstmögliche Regelmässigkeit in der Reihenfolge der Bausteine verantwortlich sei. Weil die Hälfte aller Bausteine Glycinmoleküle sind, soll in der Kette jedes zweite ein Glycinmolekül sein, weil $\frac{1}{4}$ aller Bausteine Alaninmoleküle sind, soll auch in der Kette jedes vierte ein Alanin darstellen. Jeder 16. Platz in der Kette soll von einem Tyrosin besetzt sein. Bezeichnen wir mit G den Glycinrest, mit A den Alaninrest und mit T den Tyrosinrest, so muss nach Bergmann die Peptidkette dieses Proteins die Aminosäurereihenfolge besitzen, wie sie die Formel 2 wiedergibt. Die nur durch Punkte bezeichneten Stellen werden durch die in kleineren Mengen vorhandenen übrigen Aminosäuren besetzt.

Formel 2.

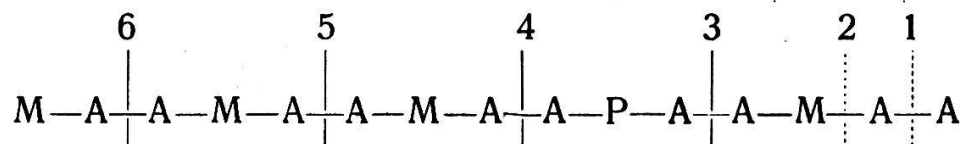
—G—A—G—T—G—A—G—●—G—A—G—●—G—A—G—●—G—A—G—T—G—

Die Bergmann-Theorie wird häufig kritisiert. Man weist unter anderem darauf hin, dass die quantitative Bestimmung der Aminosäuren noch etwas unsicher sei, um die Zahlenverhältnisse $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{16}$ aller Moleküle genügend genau festzulegen. Dann wird aber auch betont, dass der Bestand an Aminosäuren eines Hydrolysates ja prinzipiell nichts über deren Stellung im intakten Molekül aussagen könne.

¹¹⁾ Vgl. M. Bergmann und C. Niemann, J. Biol. Chem. 115, 77 (1936); 118 301 (1937); 122, 577 (1938).

Mit viel Erfolg wurde versucht, die Reihenfolge der Aminosäuren in einfachen Eiweissmolekülen mit Fermentmethoden festzulegen. Es soll im folgenden die Konstitution des Clupeins besprochen werden, wie sie Waldschmidt-Leitz ermittelte¹²⁾. Dieses relativ einfach gebaute Eiweiss soll 10 Argininreste (A), 1 Prolinrest (P), 4 Monoaminomonocarbonsäurereste (M) besitzen. Aus proteolytisch wirkenden Sekreten kann man ein spezifisches Enzym, die Protaminase, isolieren. Ihre Wirkungsweise wurde an synthetischen Peptiden genau festgelegt. Sie spaltet aus Peptidketten endständige Argininreste ab. Ein anderes spezifisch wirkendes Ferment, das Trypsin, spaltet eine Kette nur an der Stelle, an der zwei Argininreste aneinandergeknüpft sind. Lässt man nun auf Clupein zuerst Protaminase einwirken, so werden pro Molekül Eiweiss zwei Argininreste abgespalten. Diese müssen also am Ende der Peptidkette angebaut gewesen sein. Das von den beiden endständigen Argininresten befreite Restmolekül zerfällt bei der Einwirkung von Trypsin in ein Gemisch von fünf Peptiden, wovon zwei Dipeptide (MA und AM), die übrigen drei Tripeptide (AMA, AMA und APA), darstellen. Die Konstitutionsformel 3 wird diesen Beobachtungen gerecht.

Formel 3.



An den punktierten Stellen 1 und 2 setzt die Protaminase ein und löst zwei Argininreste ab. An den Stellen 3, 4, 5, 6 zerlegt das Trypsin Bindungen zwischen zwei Argininresten innerhalb der Kette.

Die Fermentmethode scheint bei einfacheren Eiweissen Einblicke in die Aminosäurereihenfolge zu vermitteln. Es darf aber nicht unterdrückt werden, dass andere Forscher ebenfalls mit Fermentspaltungen zu abweichenden Konstitutionsvorschlägen für das Clupein gelangten¹³⁾. Bei den komplizierten Eiweissen, bei denen über 20 Aminosäurereste am Aufbau beteiligt sind, gelingt

¹²⁾ Vgl. E. Waldschmidt-Leitz und E. Kofranyi, Z. physiol. Chem. 236, 181 (1935).

¹³⁾ Vgl. K. Felix und A. Mager, Z. physiol. Chem. 249, 111, 126 (1937).

es nicht, die Konstitution fermentativ zu erschliessen, weil die Spaltprodukte zu zahlreich sind.

Zusammenfassend kann das Bemühen um die Feststellung der Konstitution der Proteine folgendermassen charakterisiert werden. Der Hauptteil der Eiweisspaltprodukte besteht aus Aminosäuren, deren Konstitution sichergestellt ist. Das Verknüpfungsprinzip ist vorwiegend das peptidische. Die Reihenfolge der Aminosäuren in der Peptidkette ist bei einfachen Produkten durch Fermentmethoden wenigstens teilweise erschlossen. Bei den komplizierten Stoffen macht die Bergmann'sche Hypothese einen konkreten Vorschlag für die Folge der Bausteine, der allerdings noch keiner direkten experimentellen Prüfung zugänglich ist. Die endgültige Festlegung der Aminosäurereihenfolge wird hier noch sehr viel experimentelle Arbeit und insbesondere die Schaffung neuer Methoden erfordern.

II. Ergebnisse kolloid-chemischer Methoden

Die Kolloidmethoden haben gegenüber den erwähnten chemischen den Vorzug, dass die Stoffe nur ganz milden Eingriffen ausgesetzt werden. Man kann so die Eigenschaft des nativen Moleküls studieren.

Es werden im folgenden drei Methoden kurz erwähnt, welche neue Beiträge zur Frage des Aufbaues des Eiweissteilchens lieferten. Alle drei setzen Lösungen von Eiweissstoffen voraus. Mit diesen Methoden kann also eine grosse Gruppe sehr wichtiger Eiweissprodukte prinzipiell nicht untersucht werden. Es sind dies die unlöslichen, im nativen Zustand gequollenen, strukturbildenden Proteine.

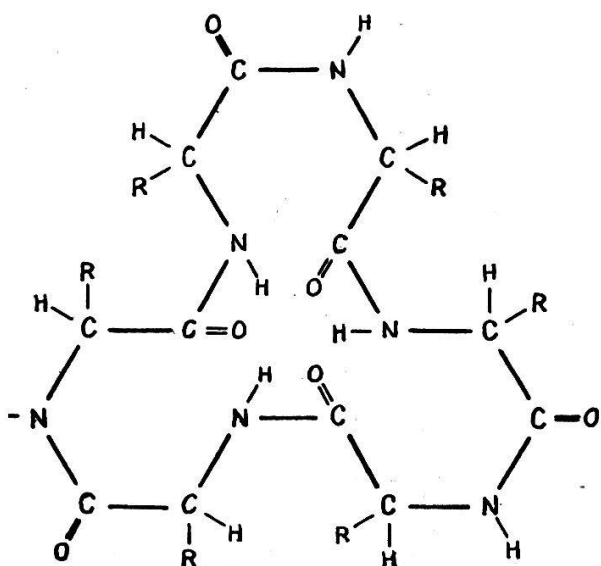
1. Die Analyse der Molekülform und -grösse mit der Ultrazentrifuge¹⁴⁾.

Ein erstes Ergebnis der Bestimmung der Molekülform mit der Ultrazentrifuge ist das, dass man im Gegensatz zu den Erwartungen, gestützt auf das chemisch ermittelte Peptidkettenprinzip, keine linearen Moleküle findet, wie sie etwa bei Lösungen der

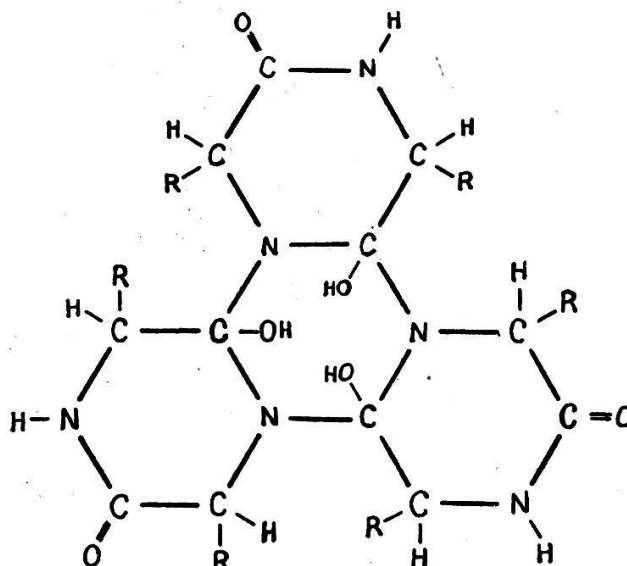
¹⁴⁾ Vgl. das Buch von The Svedberg und K. O. Pedersen „Die Ultrazentrifuge. Verlag Steinkopff, Dresden und Leipzig, (1940).

Cellulose, des Kautschuks etc. festgestellt werden konnten. Die gelösten Proteine haben durchwegs kugelige oder mässig elliptische, kompakte Teilchen. Diese Erkenntnis hat mancherlei Spekulationen über die Faltung der Peptidkette zu kugeligen Gebilden ausgelöst. Vor zirka fünf Jahren wurde die Cyclol-Theorie von Wrinch¹⁵⁾ lebhaft diskutiert. Die Formel 4 a zeigt eine geschlossene Peptidkette von sechs Aminosäuren mit den Carbonyl- und NH-Gruppen. Formel 4 b stellt die Cyclolform dar. Sie kommt durch die Wanderung einiger H-Atome von den NH zu den Carbonylgruppen zustande. Hierbei treten neue Bindungen zwischen den Kettengliedern auf. Die Cyclol-Theorie hat heute keine Anhänger mehr.

Formel 4a.



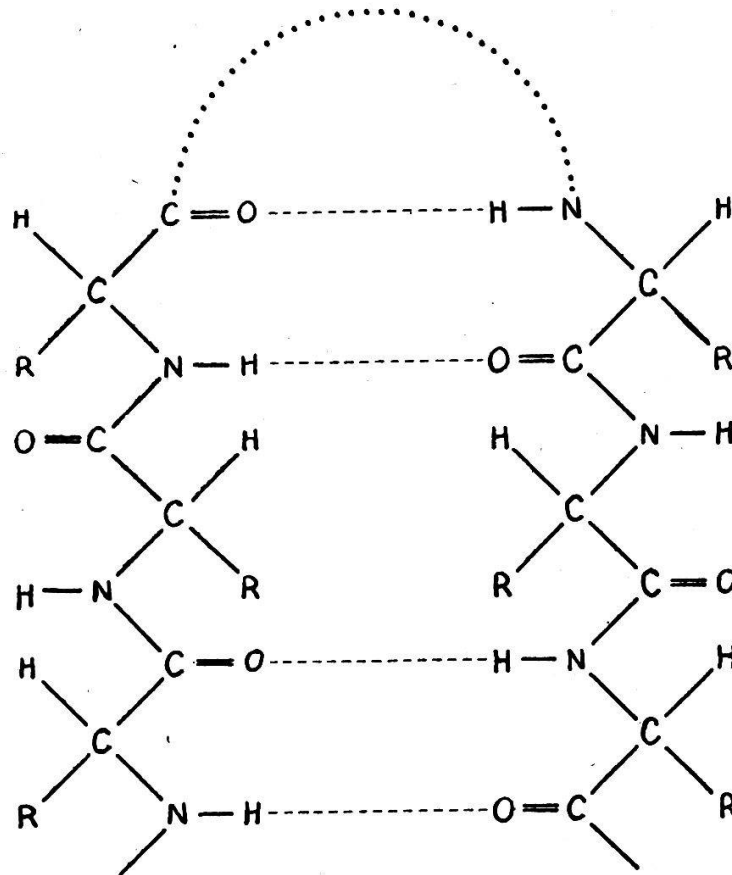
Formel 4b.



Am meisten Gewicht misst man jetzt der Faltung der Peptidketten auf Grund von H-Bindungen zu. Es sind dies relativ starke anziehende Kräfte zwischen den H-Atomen der NH-Gruppe und den O-Atomen der Carbonylgruppe. Die Formel 5 stellt die beiden Enden einer Peptidkette dar, deren mittleres Stück durch die punktierte Linie nur angedeutet ist. Die gestrichelten Linien markieren die H-Bindungen. Diese sind für die mehrfache Faltung der langen Peptidketten zu dichten kugeligen Knäueln verantwortlich.

¹⁵⁾ Vgl. D. M. Wrinch, Proc. Roy. Soc. A 161, 505 (1937).

Formel 5.



Ueber die Einheitlichkeit der Grösse der Eiweissmoleküle hat die Ultrazentrifuge folgendes Bild vermittelt. Bei den nativen Proteinen handelt es sich um streng monodisperse Lösungen, d. h. die Teilchen einer Art sind unter sich alle genau gleich gross. Dieser Befund ist darum interessant, weil sämtliche in vitro hergestellten organischen und anorganischen Kolloide stark polydispers sind. Die Eiweissteilchen erwecken in dieser Hinsicht den Eindruck, definierte Moleküle zu sein.

Die Molekulargewichte der Eiweisse sind grösstenteils einfache Multipla einer Grundzahl 17 600. Die Tabelle 2 gibt hierfür einige Beispiele.

Die 3. Kolonne enthält den Disymmetriefaktor $\frac{f}{f_0}$. Er gibt an, wie stark das Molekül von der Kugelform abweicht. Der Wert 1 bedeutet Kugelform, höhere Werte kommen elliptischen oder scheibchenförmigen Teilchen zu. Die 4. Kolonne enthält die isoelektrischen Punkte, von denen weiter unten die Rede sein wird.

Besonderes Interesse verdienen noch die Dissoziationserscheinungen gewisser Eiweissmoleküle. Bei kleinen pH-Schwankungen

Tabelle 2.

Name	Molekulargewicht		$\frac{f}{f_0}$	I. E. P.
	beobachtet	berechnet		
Laktalbumin	17 400	17 600 = 1 · 17 600	1,1	5,12
Laktoglobulin	38 000	35 200 = 2 · 17 600	1,2	5,2
Bence-Jones α	35 000	35 200 = 2 · 17 600	1	5,2
Bence-Jones β	37 000	35 200 = 2 · 17 600	1,31	5,46
Hämoglobulin (Pferd)	68 000	70 400 = 4 · 17 600	1,2	6,92
Serumglobulin (Pferd)	150 000	140 800 = 8 · 17 600	1,4	$\alpha = 5,06$ $\beta = 5,12$ $\gamma = 6,0$
Phykoerythrin (Ceramium)	290 000	282 000 = 16 · 17 600	1,2	4,25
Hämozyanin (Pandalus)	400 000	422 000 = 24 · 17 600	1,0	—
Hämozyanin (Nephrops)	820 000	845 000 = 48 · 17 600	1,2	4,64
Erythrocyruorin (Planorbis)	1 630 000	1 690 000 = 96 · 17 600	1,3	4,77
Erythrocyruorin (Lumbricus)	3 150 000	3 380 000 = 192 · 17 600	1,2	5,28
Hämocyänin (Helix pomatia)	6 700 000	6 760 000 = 384 · 17 600	1,2	5,05

zerfallen sie in kleinere, oder sie aggregieren zu grösseren Teilchen, um bei Wiedereinstellung des ursprünglichen pH die alte Grösse von neuem anzunehmen. In vielen Fällen genügt schon eine Verdünnung der Lösung oder ein geringer Zusatz von Neutralsalz oder von Harnstoff, um diese Dissoziationen oder Aggregationen auszulösen.

2. Die kataphoretische Wanderung der Eiweissteilchen.

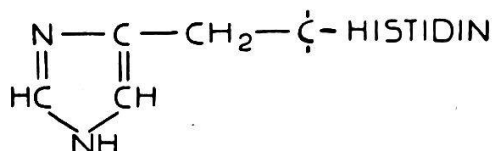
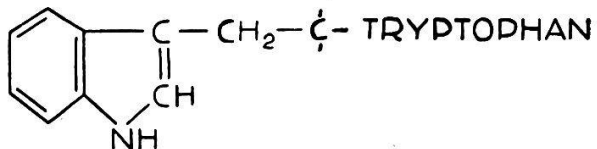
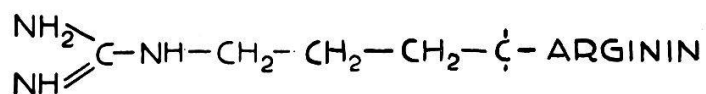
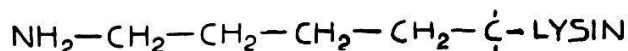
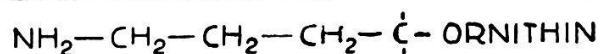
Diese Methode nützt den Ladungszustand der Eiweissteilchen aus, um im elektrischen Feld Gemische zu zerlegen. Die Ladungen der Teilchen rühren von den ionogenen Gruppen her, welche mit dem Einbau von basischen und sauren Aminosäuren ins Eiweissmolekül resultieren. Die Ladungsverhältnisse komplizierter Eiweissstoffe sind analog zu denen der einfachen Aminosäuren und

sollen an diesen erläutert werden. Schon die neutralen Aminosäuren haben eine saure und eine basische Gruppe im Molekül. Das Eiweissstückchen ist ein grosses Molekül mit zahlreichen sauren und basischen Gruppen. Die Tabelle 3 ruft in der obern Hälfte die Ladungszustände einer einfachen Säure und einer einfachen Base in saurem und alkalischem Milieu in Erinnerung. In der untern Hälfte der Tabelle sind die Ladungen einer sauren, einer neutralen und einer basischen Aminosäure im sauren, neutralen und alkalischen Medium schematisch eingetragen. Jede positive Ladung des Moleküls ist mit einem +, jede negative mit einem — charakterisiert.

Tabelle 3.

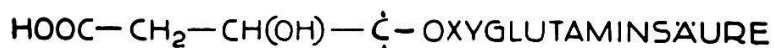
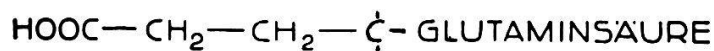
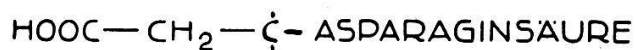
2. BASISCHE AMINOSÄUREN

R = BASISCHER REST NAME:



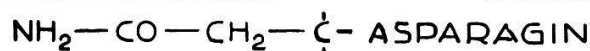
3. SAURE AMINOSÄUREN

R = SAURER REST NAME:



4. AMINOSÄUREN MIT SAUREAMIDGRUPPEN

R = SAUREAMIDGRUPPE NAME



	$RC \begin{array}{l} \nearrow O \\ \searrow OH \end{array}$		$RN \begin{array}{l} \nearrow H \\ \searrow H \end{array}$	
	Formel	Ladung	Formel	Ladung
saures Med. (HCl)	$RC \begin{array}{l} \nearrow O \\ \searrow OH \end{array}$	○	$RN \begin{array}{l} \nearrow H \\ \searrow H \end{array} \cdots Cl^-$	+
alkalisches Med. (NaOH)	$RC \begin{array}{l} \nearrow O \\ \searrow \ddot{O} \cdots Na^+ \end{array}$	-	$RN \begin{array}{l} \nearrow H \\ \searrow H \end{array}$	○

	Saure Aminos. $HOOC - \begin{array}{c} \square \\ \\ NH_2 \end{array} - COOH$	Neutrale Aminos. $\begin{array}{c} \square \\ \\ NH_2 \end{array} - COOH$	Basische Aminos. $H_2N - \begin{array}{c} \square \\ \\ NH_2 \end{array} - COOH$
saures Med.	+	-	++
Neutrales Med.	-	○	+
alkalisches Med.	--	+	-

Bei der sauren Aminosäure stellen wir folgendes fest. Im sauren Medium ist die Dissoziation der beiden COOH-Gruppen ganz zurückgedrängt, dagegen tritt Salzbildung an der Amino-Gruppe auf, und das Molekül ist einfach positiv aufgeladen. Im neutralen Medium überwiegt schon die negative Aufladung durch die Dissoziation beider sauren Gruppen. In alkalischer Lösung entsteht eine doppelte negative Aufladung durch die vollständige Dissoziation der beiden COOH-Gruppen, während die Amino-Gruppe ungeladen ist. Zwischen der neutralen und der sauren Lösung gibt es einen pH-Wert, der etwa bei 5 liegen mag, bei dem die Teilchen im Mittel ungeladen sind. Das ist der isoelektrische Punkt, bei dem das Aminosäuremolekül im elektrischen Feld keine Wanderung aufweist. Bei einer geringen Veränderung des pH nach der sauren Seite wandert das Teilchen zur Kathode, bei einer geringen Variation nach höheren Werten läuft es zur Anode.

Beim Uebergang von den Aminosäuren zu den Eiweissen hat man sich den nicht ionogenen Anteil des Moleküls grösser zu denken, und die Zahl der sauren und basischen Gruppen kann sehr verschiedene Werte annehmen, je nach der Menge der sauren

und basischen Aminosäuren im Molekül. So hat auch jedes Eiweiss seinen bestimmten isoelektrischen Punkt.

Wenn nun eine Mischung von Eiweissteilchen bei einem bestimmten pH-Wert zwischen zwei Elektroden geschaltet wird, laufen gewisse Moleküle nach der einen, gewisse nach der andern Seite, je nach der Lage ihrer isoelektrischen Punkte im Vergleich zum pH der Lösung. Es liegt hierin eine ausserordentlich wertvolle Möglichkeit, Eiweissmischungen zu trennen. Es ist insbesondere das Verdienst von A. Tiselius, Kataphoreseapparate ausgearbeitet zu haben, mit denen die Proteine schonend und quantitativ getrennt werden können¹⁶⁾. Es lässt sich mit diesem Verfahren aber auch die Wechselwirkung zwischen natürlichen Wirkstoffen und Eiweiss und zwischen Arzneimitteln und Eiweiss verfolgen. Man ist in der Lage festzustellen, mit welcher Eiweisskomponente einer Mischung eine bestimmte Wirksubstanz in chemische oder absorptive Reaktion tritt. Ferner können mit der Kataphoreseapparatur Eiweisse, die etwa mit der Ultrazentrifuge als einheitlich erscheinen, in mehrere Komponenten mit verschiedenem isoelektrischem Punkt zerlegt werden. So lässt sich das Serumglobulin in die drei Komponenten α -, β -, γ -Globulin mit den isoelektrischen Punkten 5,06, 5,12, 6,4 aufteilen.

Besonders interessante Aufschlüsse über die Proteine lassen sich durch geeignete Kombination von Messungen mit der Ultrazentrifuge und dem Kataphoreseapparat erhalten. So führte Tiselius folgendes Experiment aus¹⁷⁾. Die Hämoglobine von *Helix pomatia* und *Helix nemoralis* haben bei pH 6,8 beide ein Molekulargewicht von 6,6 Millionen. Bei pH 8,5 dissoziieren beide Teilchenarten in Moleküle von der Masse $\frac{1}{8}$, um bei pH-Erniedrigung wieder zu reassoziieren. Die Spaltstücke beider Sorten haben verschiedene isoelektrische Punkte. Es wurde nun eine Mischung der beiden Hämoglobine bei pH 8,5 zur Dissoziation und nachher bei niedrigerem pH zur Reassoziation gebracht. Es stellte sich die Frage, ob bei gleichzeitiger Gegenwart der Achtelmoleküle von *Helix pomatia* und *Helix nemoralis* die Rückbildung richtiger Ausgangsmoleküle noch möglich sei.

¹⁶⁾ Vgl. A. Tiselius „Electrophoresis of Serum globulin“, *Biochem. J.* **31**, 313, 1464 (1937); ferner „Elektrophoretische Messungen am Eiweiss“, *Koll. Z.* **85**, 129 (1938).

¹⁷⁾ Vgl. A. Tiselius, *J. of experimental Medicine*, **69**, 83 (1939).

Es stellte sich folgendes heraus. Mit der Ultrazentrifuge konnte festgestellt werden, dass auch aus der Mischung wieder bezüglich der Grösse einheitliche Teilchen des Gewichts 6,6 Millionen entstehen. Es gibt also trotz der Verschiedenheit der Achtelmoleküle wieder das monodisperse System. Das Kataphorese-Experiment liess aber erkennen, dass in den einzelnen Teilchen des Molekulargewichts 6,6 Millionen Achtel von *Helix pomatia* und Achtel von *Helix nemoralis* nach den Gesetzen der Statistik zusammengetreten waren. Im Hinblick auf die Molekulargrösse herrscht demnach noch vollständige Ordnung, im Hinblick auf die Wahl der Bausteine findet keine Selektion statt.

3. Die Spreitung auf Oberflächen¹⁸⁾.

Im Prinzip geht es bei dieser Methode darum, dass gewisse organische Moleküle auf Wasseroberflächen geordnet angelagert werden und dass man aus der leicht messbaren Platzbeanspruchung auf die Moleküldimensionen schliessen kann. Die Moleküle müssen einen wasseraffinen Teil und einen wasserunlöslichen Teil besitzen. Unter anderem haben die Fett- und die Fettsäuremoleküle diese Eigenschaft. Wasseraffin sind die sauerstoffhaltigen Gruppen, wasserabstossend die Kohlenwasserstoffreste.

Die Untersuchung von Eiweissstoffen mit diesem Verfahren hat einige überraschende Ergebnisse gezeitigt, die das Bild über den Aufbau der Proteinmoleküle von einer neuen Seite beleuchten. Es wurde festgestellt, dass die kugelförmigen, in Wasser löslichen Proteine bei gewissen pH-Werten solche monomolekulare Schichten auf dem Wasser bilden. Das Auffallende war hierbei, dass die Schichtdicke etwa 10 Å beträgt, während der Durchmesser des Moleküls in Lösung ein Mehrfaches davon darstellt. Man muss also annehmen, dass die Faltungen der Peptidketten auf Grund der H-Bindung durch die Oberflächenkräfte verändert werden. Es tritt eine weitgehende Entfaltung ein.

Es gelingt, die kleinen Quantitäten gespreiteten Materials wieder abzuschöpfen und nachher zu untersuchen. Hierbei treten verschiedene Fälle auf. Entweder ist das abgeschöpfte Material nachher unverändert. Gewisse Fermente haben nach dem Spreiten und Abschöpfen sogar dieselbe katalytische Aktivität. Andere Ei-

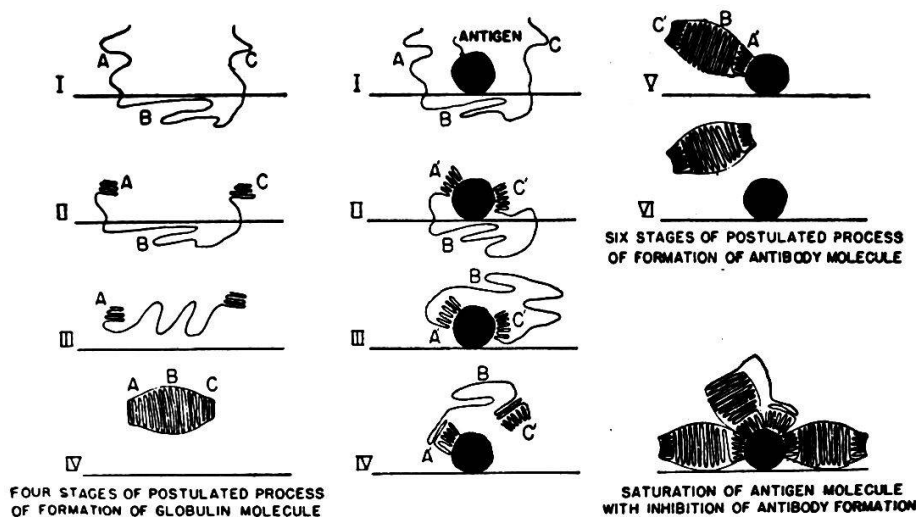
¹⁸⁾ Vgl. E. Gorter und F. Grendel, Trans. Faraday Soc. 22, 477 (1926). G. Th. Philippi „On the Nature of Proteins“, Amsterdam (1936).

weise werden durch die Spreitung irreversibel verändert, sie sind denaturiert. Hieraus geht hervor, dass zur Veränderung eines Eiweisses nicht immer ein chemischer Eingriff nötig ist, etwa durch Hydrolyse, durch Oxydation etc. Das Proteinmolekül kann vielmehr schon irreversibel verändert werden durch schwache physikalische Kräfte, wie sie bei der Absorption auf Oberflächen auftreten.

Die erwähnten neuen kolloid-chemischen Methoden haben viel dazu beigetragen, der schon längst bekannten Labilität der Eiweissmoleküle einen experimentell fassbaren Untergrund zu geben. Man gewinnt mehr und mehr die Erkenntnis, dass die alten struktur-chemischen Methoden der Zerlegung in Peptide und Aminosäuren, der Synthese von niederen und höheren Peptiden prinzipiell nicht mehr ausreichen, um die Eigenschaften der Proteine zu erfassen.

Im folgenden wird noch an einem Beispiel gezeigt, wie man die neueren Vorstellungen bereits verwertet, um biologisch-medizinische Erscheinungen zu interpretieren. L. Pauling¹⁹⁾, ein führender theoretischer organischer Chemiker, und M. Heidelberger, ein Biologe, haben gemeinsam eine Theorie der Antikörperbildung ausgearbeitet. Die Figur 1 zeigt verschiedene Stadien der Bildung eines Globulins bzw. eines Antikörpers.

Figur 1.

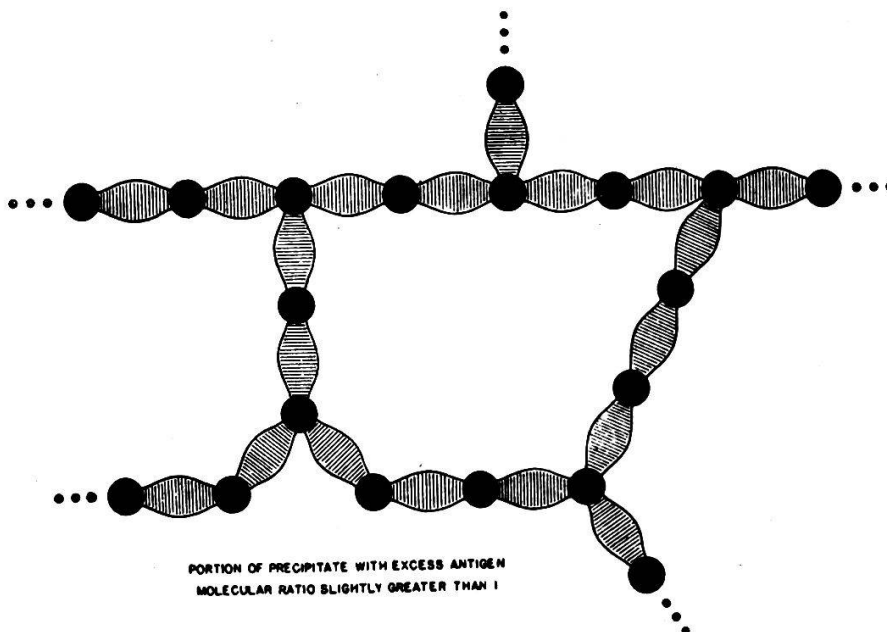


Die Bilder I—IV rechts stellen dar, wie sich eine lange Polypeptidkette von ihren Enden her auf Grund der H-Bindungen

¹⁹⁾ Vgl. L. Pauling, J. Am. chem. Soc. 62, 2643 (1940).

zusammenfaltet bis ein kompaktes Globulinmolekül vorliegt. Die Bilder I—VI in der Mitte und rechts in Fig. 1 illustrieren, wie sich bei derselben Peptidkette in Gegenwart eines Antigens die Faltung etwas anders vollzieht. Die vom Antigen ausstrahlenden Oberflächenkräfte zwingen die Kette in eine besondere Lage. Bild V zeigt das fertige Antikörpermolekül wie es einseitig noch am Antigenteilchen haftet. Bild VI stellt das vom Antigen abgelöste Antikörpermolekül dar. Es hat genau denselben Aminosäurebestand wie das Globulinmolekül und auch dieselbe Aminosäurereihenfolge. Es unterscheidet sich davon nur durch die verschiedene Faltung der Kette. Die Endflächen des Antikörperteilchens haben eine auf das Antigen abgestimmte Topographie. Dies gibt dem Antikörper die Fähigkeit, die Antigene in einem Niederschlag abzuschneiden. Fig. 2 zeigt die Struktur eines solchen Niederschlages.

Figur 2.



Zum Schluss muss nochmals darauf hingewiesen werden, dass die kolloid-chemischen Methoden sich in ihrer Anwendung auf lösliche Eiweisse beschränken. Die Mehrzahl der Proteine ist aber gewebsgebunden, und es gelingt nur durch kräftige abbauende oder sonstwie verändernde Eingriffe, Lösungen herzustellen. Hierbei wird der native Zustand, der für das biologische Geschehen der interessanteste ist, schon weitgehend zerstört. Um diesen

Systemen näher zu kommen, wird die Schaffung neuer Methoden ebenfalls nötig sein. Es bleibt zu hoffen, dass die Auflösungsfähigkeit der Uebermikroskope noch weiter gesteigert werden kann, so dass die feinsten Strukturen direkt sichtbar werden, die sich in den Dimensionen an die chemisch ermittelbaren Atomanordnungen anschliessen.

Auf jeden Fall bietet die exakte Konstitutionsermittlung der Proteine trotz der erzielten Fortschritte heute noch unüberwindliche Schwierigkeiten.