

Ueber das Nuclein der Hefe.

Von Dr. **Albrecht Kossel**, Assistent am physiol.-chem. Institut
zu Strassburg.

(Der Redaktion übergeben am 9. Juni.)

Erster Theil.

Miescher¹⁾ entdeckte im Jahre 1869 in den Kernen der Eiterkörperchen das Nuclein, eine amorphe Substanz, welche sich durch Löslichkeit in Alkalien, Unlöslichkeit in Wasser und Säuren und einen hohen Phosphorsäuregehalt auszeichnete.

Hoppe-Seyler²⁾ isolirte bald darauf aus der Hefe einen Körper, welcher dem Nuclein Miescher's sehr ähnlich ist. Später wurde eine allgemeine Verbreitung dieses Körpers im Thier- und Pflanzenreiche erkannt. Dennoch sind unsere Kenntnisse über denselben äusserst geringe, insbesondere ist es zweifelhaft, ob die Nucleine verschiedenen Ursprungs unter einander identisch sind.

In Folgendem sind die ersten Ergebnisse einer Untersuchung über das Nuclein der Bierhefe mitgetheilt.

I. Literatur.

Mehrere Thatsachen, die mit dem Vorkommen des Nucleins in engem Zusammenhang stehen, haben schon seit lange die Aufmerksamkeit der Chemiker auf sich gezogen.

Braconnot (1831)³⁾ beschreibt als «matière animale» der Weinhefe einen Körper, der seiner Darstellung und seinen Eigenschaften nach mit dem Nuclein identisch zu sein scheint. Ein Phosphorgehalt wurde indess von ihm nicht bemerkt.

¹⁾ Medic.-chem. Untersuchungen, herausgeg. v. Hoppe-Seyler, S. 441.

²⁾ Loc. cit., S. 500.

³⁾ Annales de Chimie et de Physique, T. 47, p. 60.

Quevenne (1838)¹⁾ welcher die saure Reaktion der Hefeasche bemerkte, erhielt einen ähnlichen Körper, indem er das alkalische Extrakt der Bierhefe mit Säuren fällte.

Schlossberger (1844)²⁾ analysirte einen ähnlichen Niederschlag (s. u.)

Von den Aschenanalysen der Hefe seien nur die von Mitscherlich (1845)³⁾ erwähnt.

Derselbe fand in der Asche einen so grossen Ueberschuss von Phosphorsäure, dass er einen Theil derselben als saures phosphorsaures Salz in Rechnung bringen musste. In der Asche der Oberhefe sind 40,3% saures und 41,0% neutrales phosphorsaures Kali vorhanden. In der Unterhefe bildet das erstere 60,0, das letztere 7,8% der Asche.

Pasteur (1858)⁴⁾ fand, dass bei der Gährung eine merkliche Vermehrung jener stickstoffhaltigen Materien der Hefe eintritt, die in verdünnter Schwefelsäure unlöslich sind (Nuclein?)

Béchamp (1865)⁵⁾ zeigte, dass die Bierhefe beim Kochen mit Wasser bedeutende Mengen Phosphorsäure abgibt, «deren ein Theil in freiem Zustande ist.» Wenn man jedoch die Bierhefe mit oft gewechseltem Wasser bei gewöhnlicher Temperatur stehen lässt, so erfolgt allmählich eine Abgabe («Secretion») von Phosphorsäure, die sich mit der Zeit steigert.

Hoppe-Seyler (1869)⁶⁾ fand für das Nuclein der Hefe folgende Zusammensetzung: C 43,00, H 6,06, N 15,31, P 2,58.

Loew (1878)⁷⁾ glaubt, sich überzeugt zu haben, dass

¹⁾ Journal de Pharmacie, T. 24, p. 265.

²⁾ Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 51, S. 193.

³⁾ Berichte über die Verhandlungen der Academie der Wissenschaften zu Berlin, 1845, S. 242.

⁴⁾ Die Alkoholgährung von Pasteur. Deutsch v. Griessmayer, 2. Ausg. S. 86.

⁵⁾ Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, Bd. LXI, p. 689.

⁶⁾ Loc. cit.

⁷⁾ Journ. f. prakt. Chemie. Liebigs Ann., Bd. 193, S. 322.

das Nuclein der Hefe nichts sei, als ein Eiweisskörper «mit «geringer Beimengung von phosphorsaurem Kalk und Magnesia. Bei dem beträchtlichen Gehalt der Hefe an Phosphaten kann eine geringe Verunreinigung mit «Phosphor» «dessen Anwesenheit Hoppe-Seyler zur Annahme des «Nucleins in der Hefe bestimmt hatte, nicht überraschen.»

Ueber die chemische Natur des Nucleins liegen nur wenige Andeutungen vor. Miescher¹⁾ leitete aus den Analysen eines aus Lachssperma gewonnenen Präparates die Formel: $C_{29}H_{49}N_9P_3O_{22}$ ab.

Das Nuclein hat saure Eigenschaften und sättigt vier Aequivalente Baryum.

Einer soeben publicirten Notiz²⁾ ist zu entnehmen, dass Lubavin in dem Nuclein der Kuhmilch durch Kochen mit Wasser eine theilweise Abspaltung der Phosphorsäure bewirkte. Bei der Spaltung des Nucleins soll ein Eiweisskörper entstehen, über dessen Natur und Nachweiss nichts mitgetheilt wird.

II. Darstellung des Nucleins.

Presshefe wird in Wasser zu einem Brei zertheilt und nach mehreren Stunden die Flüssigkeit von dem Hefeschlamm abgossen. Nachdem dies Verfahren 1—2 mal wiederholt ist, wird der Hefeschlamm in sehr verdünnte Natronlauge gebracht und sofort filtrirt, das Filtrat tröpfelt in verdünnte Salzsäure. Der hier gebildete Niederschlag hat sich bald so weit gesenkt, dass die darüber stehende Flüssigkeit abgossen werden kann. Der Niederschlag wird auf ein Filter gebracht und anfangs mit verdünnter Salzsäure, später mit Alkohol sorgfältig ausgewaschen. Das Filter verstopft sich hierbei bald und muss öfter erneuert werden. Hierauf wird der Niederschlag mit absolutem Alkohol 2—3 mal ausgekocht. In den Alkohol gehen meist Produkte von rothbrauner Farbe über (nur Präparat I gab an siedenden absoluten Alkohol keine löslichen Stoffe ab), zugleich nimmt der Al-

¹⁾ Verhandlungen der naturforschenden Gesellsch. in Basel, VI. Bd. 1878, S. 166.

²⁾ Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. XII-1021.

kohol eine schwach saure Reaction an. Die mit Alkohol extrahirte Masse wird unter der Luftpumpe bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet.

III. Eigenschaften und Zusammensetzung des Nucleins.

Wenn die Präparate mit absolutem Alkohol vor dem Eintrocknen entwässert sind, so stellen sie ein rein weisses (Präparat I) oder schwach röthliches, sehr leichtes Pulver dar.

Beim Erhitzen auf 120° gibt die unter der Luftpumpe bis zur Constanz des Gewichtes getrocknete Substanz 3,54% beim Erhitzen auf 140° 7,38% an Gewicht ab. Sie behält dabei ihre weisse Farbe, zwischen 140 und 160° tritt Bräunung, bei 160° vollkommene Schwärzung ein. Die auf 115° erhitze Substanz ertheilt dem Wasser saure Reaction. Der Körper ist sowohl nach dem Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur, als auch nach dem Erhitzen auf 120° theilweise in Natronlauge und kohlen-saurem Natron löslich und aus dieser Lösung durch Salzsäure fällbar. Die Lösung in Natronlauge gibt mit Kupfersulphat in der Kälte schwache Peptonreaction. Nur in sehr geringer Menge wird das Nuclein durch Barytwasser aus der Hefe aufgenommen.

Präparat I gab bei der Analyse folgende Werthe:

	A.		B.							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	41,22	41,18	40,42	40,42						
H	5,52	5,28	5,15	5,48						
N					15,98	(15,31)	15,99			
P								6,1	6,29	
S										0,38

(Um Kohleeinschluss durch die schmelzende Metaphosphorsäure zu verhüten, war die Substanz mit Kupferoxyd gemischt verbrannt.) Portion A war bei 120°, Portion B bei 115° getrocknet. Das Mittel aus den gefundenen Zahlen ist folgendes:

C 40,81, H 5,38, N 15,98, P 6,19, S 0,38.

Aschenbestandtheile liessen sich im Uebrigen in dem

untersuchten Präparat nicht nachweisen; 0,7175 grm. mit Soda und Salpeter verbrannt gab keine Reaktion auf Kalk, Magnesia, Chlor.

Es gelang trotz mehrfacher Versuche nicht, ein Präparat von demselben Phosphorgehalt, wie das analysirte, wiederum darzustellen. Phosphorbestimmungen in den übrigen Präparaten ergaben:

Präparat III.	3,28% P.
» IV.	3,55% P.
» V.	3,94% P.

Diese Präparate enthielten sehr geringe Mengen von Kalk und Magnesia.

Dass bei der Darstellung des Nucleïns ausserordentlich leicht eine Zersetzung unter Abspaltung von Phosphorsäure stattfindet, ist bekannt. Nach den vorliegenden Zahlen scheint es, als ob am häufigsten Präparate erhalten werden, deren Pgehalt zwischen 3 und 4% schwankt — eine Thatsache, die auf eine festere Bindung desjenigen Theils der Phosphorsäure hinzudeuten scheint, der unter dieser Grenze liegt.

Eine Schwefelbestimmung in Präparat V ergab 0,41% S.

Das Mitgetheilte bestätigt die von Hoppe-Seyler gefundene Thatsache, dass in dem untersuchten Niederschlag ein eigenthümlicher Stoff enthalten ist, der sich durch seine Löslichkeitsverhältnisse und seinen hohen Phosphorsäuregehalt auszeichnet. Ob das so dargestellte Nucleïn ein reiner Körper ist, darüber müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Da das Präparat aus salzsaurer Lösung gefällt und mit Salzsäure ausgewaschen ist, so lässt sich eine Verunreinigung mit Eiweisskörpern nicht annehmen.¹⁾

IV. Spaltungsprodukte des Nucleïns.

Das Nucleïn wird durch siedendes Wasser unter Freiwerden von Phosphorsäure zerlegt. Die Abspaltung der

¹⁾ Ob eine Beziehung existirt zwischen dem Nucleïn und denjenigen Substanzen, welche von früheren Autoren als «Pflanzencaseïn» bezeichnet sind, (nach Aug. Schmidt u. Weyl Umwandlungsprodukte von Globulinsubstanzen) muss durch weitere Untersuchungen festgestellt werden.

Phosphorsäure geht anfangs schnell, zuletzt sehr langsam vor sich.

Kocht man Nuclein mit Wasser längere Zeit, so erhält man A, einen unlöslichen Niederschlag, der keinen Phosphor enthält, B, eine wässrige saure Lösung, C, ein flüchtiges Produkt.

Wird die Zersetzung im zugeschmolzenen Rohr vorgenommen, so ist beim Oeffnen des Rohres kein Gasdruck bemerkbar. Uebersättigt man die Lösung B, mit Barytwasser und leitet mehrere Stunden lang einen Luftstrom durch dieselbe, so giebt dieser an die vorgelegte Salzsäure kein Ammoniak ab. CO_2 und NH_3 wird also bei der Zersetzung des Nucleins durch siedendes Wasser nicht gebildet.

Die Menge des Niederschlags A, betrug in einem Falle (18stündiges Sieden) 26,95%, bei einem anderen Versuch (12stündiges Sieden) 32,23% des angewandten Nucleins. Im letzteren Falle enthielt der Niederschlag noch etwas Phosphorsäure. Um die Einwirkung der bei der Zersetzung frei werdenden Phosphorsäure auf den Niederschlag auszuschliessen, wurde bei einem 3. Versuche die Substanz mit kohlen-saurem Baryt im zugeschmolzenen Rohr 14 Tage lang (tägl. ca. 9 Stunden) im Wasserbade erhitzt. Beim Oeffnen des Rohrs war ziemlich starker Gasdruck bemerkbar, die Flüssigkeit schäumte. Die ursprüngliche Substanz enthielt 3,55% P, der Niederschlag entsprach nach dem Auswaschen mit Salzsäure 57,6% der ursprünglichen Substanz, enthielt aber noch 1,35% P.

Der Niederschlag zeigt nach dem Trocknen bei 115° folgende Eigenschaften: Er ist nicht löslich in siedendem Wasser, siedender oder kalter, verdünnter oder rauchender Salzsäure, leicht löslich in siedender Natronlauge, wird durch Uebersättigen mit Salzsäure aus dieser Lösung flockig gefällt; in kalter concentrirter Schwefelsäure ist er nur in geringem Grade und bei längerem Stehen, leicht dagegen in der Wärme löslich, und wird aus dieser Lösung nicht durch Wasser oder überschüssige Natronlauge gefällt. In concentrirter Sal-

petersäure ist er in der Wärme löslich und wird aus der Lösung durch Zusatz von Alkohol oder Wasser gefällt.

Die Substanz bildet ein sandiges Pulver, wenn das zur Darstellung benutzte Nuclein vor dem Trocknen durch absoluten Alkohol gut entwässert war, dagegen gequollene Massen, wenn dasselbe in wasserhaltigem Zustand zum Trocknen gebracht war.

Die Analysen der bei 115° getrockneten Substanz gaben folgendes Resultat:

Präparat I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittel.
C	53,57	53,87	53,63						53,69
H	7,11	6,83	6,96						6,97
N						14,07	13,88		13,97
S								0,88	0,88
Asche.		2,07	1,66	1,92	2,15				1,95

Präparat I.

(Mittel f. aschefreie Subst.)

C 54,76

H 7,11

N 14,25

S 0,90

Präparat II.

(aschefrei.)

55,03

6,91

13,53

(Nicht bestimmt.)

Die beiden Präparate waren aus Nucleinen verschiedener Darstellung gewonnen. Die Asche des Präparates II. hatte Kohle eingeschlossen, war indess nicht wägbare.

Die Zusammensetzung dieses Körpers nähert sich derjenigen der Eiweisskörper; der Kohlenstoffgehalt ist ein höherer, der Stickstoffgehalt ein niedrigerer.¹⁾ Es ist von Interesse, die Resultate dieser Analysen mit der Zusammensetzung eines Niederschlages zu vergleichen, den Schlossberger erhielt, indem er das alkalische Extrakt der Hefe mit Säuren fällte:

C 55,53, H 7,50, N 14,01 — 13,75.

Nimmt man an, dass die Kalilauge in der Kälte eine Spaltung des Nucleins in derselben Richtung herbeiführt,

¹⁾ Die Stickstoffbestimmung wurde hier — wie oben — nach der Dumas'schen Methode ausgeführt.

wie das Kochen mit Wasser, so ist es höchst wahrscheinlich, dass der von Schlossberger analysirte Körper mit dem von mir erhaltenen identisch ist. Die Unterschiede in einigen Reactionen können durch das Erhitzen meines Präparates auf 100° hervorgerufen sein.¹⁾

Unter den löslichen Spaltungsprodukten des Nucleïns, deren Untersuchung noch nicht beendet ist, liess sich eine nicht unbedeutende Menge Hypoxanthin nachweisen.

¹⁾ Schützenberger macht auf eine Uebereinstimmung des Schlossberger'schen Körpers mit dem Hemiprotein aufmerksam. (Les fermentations. Bibliothèque scientifique internationale, XIII. p. 57.)

Die Zusammensetzung des Hemiproteins ist folgende:

C 53,33—52,66, H 7,31—7,01, N 14,27—14,5.

(Ann. de Chimie et de Physique XVI, p. 403.)