

Weitere Mittheilungen über die Protamine.

Von
A. Kossel.

Durch frühere Untersuchungen habe ich nachgewiesen, dass die Protamine eine Gruppe chemischer Verbindungen bilden, welche bei ihrer Spaltung Hexonbasen liefern.¹⁾ Ich habe diese Spaltungsprodukte zunächst aus dem Sturin, dem Protamin des Störspermas, erhalten und sodann die bei diesen Untersuchungen benutzten Methoden auf andere Protamine (Clupein resp. Salmin) übertragen. Die Methoden zum Nachweis des Lysins und besonders das Verfahren zur Trennung des noch ungenügend bekannten Histidins vom Arginin waren noch recht unvollkommene und konnten nur als Nothbehelf betrachtet werden. Ich habe mich daher bemüht, die früheren Resultate mit besseren Hilfsmitteln nachzuprüfen.

Hierbei haben sich einige Abweichungen von meinen früheren Befunden ergeben, welche besonders das Clupein betreffen.

Es zeigte sich vor Allem, dass das Quecksilberchlorid als Trennungsmittel von Histidin und Arginin nur in besonderen Fällen brauchbare Resultate gibt. Dasselbe fällt zwar, wenn man es in der früher von mir beschriebenen Weise anwendet, aus einer Mischung beider Basen zunächst das Histidin heraus und hat bei der Auffindung und Isolirung dieser Base gute Dienste geleistet; man ist aber trotzdem bei Anwendung dieses Trennungsmittels nie vor einer Beimengung von Arginin zum Histidin sicher. Während der durch Quecksilberchlorid aus

1) Diese Zeitschrift Bd. XXII, S. 176, Bd. XXV, S. 165.

der Lösung der Spaltungsprodukte des Sturins gefällte Niederschlag bei meinen früheren Versuchen Histidin ohne erhebliche Beimengungen enthielt, scheint dasselbe Fällungsmittel aus den Zersetzungsprodukten des Clupeins Arginin niedergeschlagen zu haben. Die von mir als Histidin angesprochene Substanz ist in diesem letzteren Falle offenbar Arginin gewesen: Bei Wiederholung dieser Versuche mit verbesserten Methoden ist es mir nicht gelungen, das Histidin unter den Spaltungsprodukten des Clupeins und des Salmins nachzuweisen.

Neuerdings habe ich das in der vorhergehenden Mittheilung des Herrn Dr. Kurajeff beschriebene Scombrin in grösserer Menge aus Makrelensperma dargestellt. Auch aus diesem Protamin konnte ich bei der Spaltung mit Schwefelsäure kein Histidin gewinnen.

Aus dem Sturin hingegen erhielt ich bei gleichem Verfahren das Histidin ohne Schwierigkeit, ebenso konnte ich geringe Mengen von Histidin, die ich den Spaltungsprodukten zusetzte, durch Silbernitrat und wenig Ammoniak¹⁾ leicht nachweisen. Man muss also annehmen, dass das Clupein sich durch das Fehlen der Histidingruppe vom Sturin unterscheidet. Die folgenden Untersuchungen zeigen, dass sich unter seinen Spaltungsprodukten des Clupeins auch kein Lysin vorfindet.

Nachdem ich früher das Lysin als Spaltungsprodukt des Sturins nachgewiesen hatte, glaubte ich die Entstehung dieser Base auch bei den übrigen Protaminen voraussetzen zu dürfen. In dieser Vermuthung wurde ich dadurch unterstützt, dass ich aus der vom Arginin befreiten Flüssigkeit einen Rückstand erhielt, welcher mit Pikrinsäure ein krystallisirtes Salz gab. Auf Zusatz von Phosphorwolframsäure zu der concentrirten Lösung entstand ein Niederschlag, welcher Kohlenstoff und Stickstoff annähernd im Verhältniss des Lysins enthielt. Trotzdem gelang es nicht, Lysin aus den geringen Rückständen darzustellen.

Als ich mit Hülfe der oben beschriebenen Methode zum Nachweis des Lysins die Prüfung wiederholte, konnte ich leicht

1) Hedin, Diese Zeitschrift Bd. XXII, S. 194.

feststellen, dass dieser Rückstand überhaupt kein Lysin enthält. Alkoholische Lösung von Pikrinsäure erzeugte in der eingeeengten Lösung der freien Base keinen Niederschlag, vielmehr krystallisirte aus der vom Argininsilber abfiltrirten Flüssigkeit nach Entfernung des Baryts und geringer Mengen von Silber eine Substanz, welche sich durch Umkrystallisiren aus Wasser und verdünntem Alkohol in einen schwerer und einen leichter löslichen Antheil trennen lässt. Ersterer wird nach dem Umkrystallisiren aus 66 procentigem Alkohol in weissen blättchenförmigen Krystallen erhalten, welche bei 120° getrocknet folgende Analysenwerthe ergaben.

1. 0,1074 gr. Substanz gab 0,2020 gr. CO₂ und 0,0921 gr. H₂O:

2. 0,1439 gr. Substanz gab 15,3 ccm. Stickstoff bei 13,5° und 747 mm.

Barometerstand.

	Gefunden	Berechnet für C ₅ H ₁₁ NO ₂
C	51,29	51,28
H	9,53	9,4
N	12,33	11,96

Die Substanz hat nach dieser Analyse die Zusammensetzung einer Amidovaleriansäure. Sie ist in Wasser ziemlich leicht, in absolutem Alkohol wenig oder gar nicht löslich und wird durch Alkohol aus wässriger Lösung gefällt. Beim trockenen Erhitzen erhält man ein weisses wolliges Sublimat: führt man diese Sublimation vorsichtig aus, so verbleibt keine Kohle. Hierbei entwickelt sich ein Geruch, ähnlich dem, welcher beim Erhitzen des Leucins auftritt. Die Lösung dieser Substanz gibt mit Eisenchlorid eine tief braunrothe Färbung, mit Kupfer bildet sie ein leicht lösliches Salz, mit Salzsäure eine in Wasser leicht lösliche, durch Aether aus alkoholischer Lösung in krystallisirtem Zustand fällbare Verbindung. Anhaltspunkte für die Identität mit einer der bisher bekannten Amidovaleriansäuren liessen sich bei den geringen Substanzmengen bisher nicht gewinnen.

Dies neue Verfahren zum Nachweis des Lysins ermöglichte auch die Entscheidung der Frage, ob sich aus dem Sturin ausser den drei bisher gewonnenen Hexonbasen noch andere Spaltungsprodukte gewinnen lassen. Zu diesem Zweck zerlegte ich das Sturin in der früher beschriebenen Weise mit Schwefel-

säure und fällte das Histidin mit dem Arginin durch Silbersulfat und Baryt heraus. Das Filtrat wurde vom Baryt und geringen Mengen des Silbers befreit und mit alkoholischer Pikrinsäure gefällt. Den durch Pikrinsäure erzeugten Niederschlag krystallisirte ich aus Wasser um und führte ihn sodann in das Chlorhydrat über. Eine Chlorbestimmung ergab Folgendes:

0,2203 gr. Substanz gab 0,2865 AgCl.	
Gefunden	Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_4 \cdot 2HCl$
Cl 32,17	32,34

Das Salz bestand demnach aus Lysinchlorhydrat.

Aus der vom Lysinpikrat abfiltrirten alkoholischen Flüssigkeit entfernte ich zunächst die Pikrinsäure, indem ich nach Entfernung des Alkohols den Rückstand im Wasser löste und unter Zusatz von Schwefelsäure mit Aether ausschüttelte. Der Rückstand wurde zur Entfernung der Schwefelsäure mit Barytwasser unter Vermeidung eines Ueberschusses versetzt und zur Krystallisation eingedampft. Der Rückstand verhielt sich ebenso wie die aus Clupein nach Entfernung des Arginins erhaltene Substanz, doch war die Substanzmenge zu gering, um ein für die Analyse geeignetes Präparat zu gewinnen.

Diese Beobachtungen bedürfen noch in vieler Hinsicht der Vervollständigung. Ich theile sie trotzdem schon jetzt mit, weil sie eine Aenderung eines Theils meiner früheren Betrachtungen über die Zusammensetzung der Protamine nothwendig machen und neue wesentliche Gesichtspunkte zur Beurtheilung dieser einfachsten Eiweisskörper darbieten. Sie zeigen, dass die Unterschiede innerhalb dieser Körperklasse grösser sind, als ich früher annahm. Es sind jetzt zwei Gruppen von Protaminen bekannt, zu der einen gehört das Sturin, welches drei Hexonbasen liefert, zu der andern das Clupein (resp. Salmin) und das Scombrin, unter deren Spaltungsprodukten bisher nur eine Hexonbase, das Arginin, nachgewiesen werden konnte. Neben diesen Basen findet sich aber noch ein bisher nicht völlig aufgelöster Rest in geringer Menge. In diesem konnte beim Clupein ein Körper von der Zusammensetzung einer Amidovaleriansäure nachgewiesen werden.

Ich habe in meiner früheren Abhandlung die Ansicht

geäussert, dass dem Eiweissmolekül ein Protaminkern zu Grunde liegt. Nach den hier mitgetheilten Ergebnissen muss dieser Kern — wenigstens für die bisher in dieser Richtung untersuchten Eiweisskörper — ein zur Sturingruppe gehöriger Protaminkern sein. Denn bisher sind bei den Eiweisskörpern ebenso wie beim Sturin alle drei Hexonbasen nebeneinander gefunden worden.

Die weitere Erörterung meiner Ergebnisse, welche auch im Hinblick auf die Analogie zu den Kohlehydraten einiges Interesse darbietet, sei bis zur Gewinnung sicherer experimenteller Grundlagen verschoben.