

Studien über Histon.

Von

Ivar Bang, Christiania.

Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium zu Upsala.

Der Redaction zugegangen am 25. Mai 1899.

Vergleicht man die verschiedenen Körper, die man mit dem Namen Histon bezeichnet hat, mit einander, so wird man sie so verschieden finden, dass es scheint, als ob man hierunter Körper ungleicher Art beschrieben hat.

Eine kurze Uebersicht über die Entwicklung des Histonbegriffes wird dies zeigen.

Der Histonbegriff verdankt Kossel¹⁾ seinen Ursprung, indem dieser Forscher 1884 zum ersten Male durch Salzsäure-extraction aus dem Stroma der rothen Gänseblutkörperchen einen albumosenähnlichen Körper darstellte, welchen er mit dem Namen Histon bezeichnete. Aus der salzsauren Lösung wurde das Histon durch Steinsalz niedergeschlagen: der Niederschlag löste sich wieder beim Entfernen des Salzes durch Dialyse, und die Lösung enthielt das Histon. Die neutrale Histonlösung zeigte folgende Eigenschaften: Sie wurde von den Neutralsalzen gefällt. Alkalien und alkalische Erden erzeugten ebenfalls eine Fällung, die im geringsten Ueberschuss des Fällungsmittels sich wieder löste. Ammoniak erzeugte auch Fällung und diese Fällung war im Ueberschuss von Ammoniak unlöslich, eine Eigenschaft, die als charakteristische Reaction auf Histon angesehen worden ist. Die neutrale Histonlösung coagulirte nicht beim Kochen. Mit Salpetersäure bekam man

1) Diese Zeitschrift, Bd. VIII.

einen Niederschlag, der beim Erhitzen verschwand und beim Erkalten wieder hervortrat. Die Biuretreaction war sehr schön, die Millon'sche Reaction ganz schwach. Das Histon enthielt eine Stickstoffmenge, die zwischen 17,95 % und 18,46 % nach der Darstellung (Fällung mit Alkohol-Aether oder mit Ammoniak variierte. Weiter enthielt das Histon 0,5 % S.

Mehrere Jahre nach Kossel's Entdeckung des Gänsebluthistons wurde ein neues Histon aus der Thymusdrüse von Lilienfeld¹⁾ dargestellt. Das Histon kam hier in Verbindung mit Nuclein als Nucleohiston vor. Dieses Histon wurde von Lilienfeld als identisch mit dem Gänsebluthiston angesehen, da es dieselben Eigenschaften wie Kossel's Histon hatte; doch mit einer Ausnahme: Lilienfeld's Histon coagulirte beim Kochen oder, correcter ausgedrückt, wurde beim Kochen der neutralen Lösung ausgefällt, Kossel's aber, wie oben angeführt, nicht. Lilienfeld's Histon stammte von den weissen Blutkörperchen im Thymus her. In Uebereinstimmung hiermit konnte er auch dasselbe Histon aus den Leucocyten des Blutes und aus anderen an Leucocyten reichen Organen, wie der Milz, isoliren. Auch in den Testes will er ein Histon gefunden haben.

In dem von Mathews³⁾ aus einem Seeigel (*Arbacia*) isolirten Histon begegnen wir einem von dem gewöhnlichen sehr abweichenden Körper. Erstens wurde dieses Histon, von Mathews auch Arbacin genannt, nicht oder richtiger nur äusserst unvollständig von Ammoniak niedergeschlagen. Weiter enthielt das Arbacin nur 15,91 % Stickstoff im Gegensatz zu ca. 18,0 bei Kossel's Histon. Endlich besass das Arbacin zwei charakteristische Eigenschaften der Protamine: es wurde von den Alkaloidreagentien in neutraler oder schwach alkalischer Lösung gefällt und gab selbst mit einer Eiweisslösung einen Niederschlag. Da nun Mathews gar nicht angibt, inwieweit die echten Histone diese zwei Protaminreactionen geben, und da auch sonst keiner eine solche Beobachtung über das Ver-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XVIII.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIII.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV.

hältniss der echten Histone zu diesen zwei Reactionen veröffentlicht hat, so ist es ganz merkwürdig, wenn man bei Mathews liest, dass das Arbacin sich von anderen Histonen nur dadurch unterscheidet, dass es nicht durch Ammoniak niedergeschlagen werden kann.

In mehreren Beziehungen ist auch das von Schulz¹⁾ durch Spaltung des Hämoglobins dargestellte Globin, welches auch als ein Histon angesehen worden ist, von den echten Histonen verschieden. Dieser Körper wurde zwar auch aus neutraler oder schwachsaurer Lösung von Ammoniak, Alkalien und alkalischen Erden niedergeschlagen, der Niederschlag war aber im Ueberschuss des Fällungsmittels — auch Ammoniak — leicht löslich. Dagegen war der Niederschlag von Ammoniak im Ueberschuss von NH_3 unlöslich, wenn die Lösung 1—2% Salmiak enthielt. War das Globin in Ammoniak gelöst, so konnte man auch durch Zusatz von Salmiak den Niederschlag wieder erzeugen. In seinen übrigen Reactionen war das Globin den gewöhnlichen Histonen ganz ähnlich. Der Stickstoffgehalt des Globins war 16,81% N, also ca. 1,20% weniger als Kossel's Histon.

Während man ohne Weiteres dem Arbacin und Globin einen Platz zwischen den Histonen gegeben hat, beansprucht die Albuminose Miescher's²⁾ aus unreifer Salinsperma nach meiner Ansicht viel mehr eine solche Stellung. Dieser Körper wurde von Ammoniak niedergeschlagen, der Niederschlag war im Ueberschusse von Ammoniak unlöslich. Sein Stickstoffgehalt war ungefähr derselbe wie beim Gänsebluthiston — ca. 0,5% N weniger. Als Miescher aber fand, dass die Albuminose von HgCl_2 , das Gänsebluthiston nicht fällt, niedergeschlagen wurde, sah er sie nicht als ein Histon, vielmehr als eine eigenthümliche Albumose an.

Durch diese kurze Uebersicht, in der ich im Wesentlichen alles, was wir vom chemischen Standpunkte über diese Substanzen wissen, mitgetheilt habe, meine ich auch bewiesen zu

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV.

2) Archiv f. experiment. Pathologie u. Pharmacologie, Bd. 37.

haben, dass die als Histone beschriebenen Körper so verschieden sind, dass es in der That schwer ist zu sagen, was überhaupt die Histone charakterisirt. Aus diesem Grunde scheint mir eine genauere Untersuchung der Histone sehr wünschenswerth.

Eine solche Untersuchung habe ich, der Anregung Prof. Hammarsten's folgend, ausgeführt. Ich bin auch Prof. Hammarsten für seine immer liebenswürdige Unterstützung während dieser Arbeit zu grossem Dank verpflichtet.

In Verbindung mit diesen Untersuchungen hatte ich vor Allem auch eine andere Frage zum Gegenstand näherer Prüfung zu machen gehofft. Bekanntlich sieht Kossel¹⁾ die Histone als eine Verbindung von Protamin und Eiweiss an, indem er nämlich durch Mischung von Protamin- und Eiweisslösungen und Zusatz von Ammoniak einen Niederschlag bekam, der sich in jeder Beziehung wie Histon verhielt.

Ich hatte mir auch deswegen eine grössere Menge Macrelensperma verschafft. Bei der Verarbeitung des Sperma zeigte es sich aber, dass es kein Protamin enthielt, es war also unreif. Dafür fand ich in reichlicher Menge eine Substanz, welche Miescher's Albuminose aus Salmsperma ganz ähnlich war. Diese Substanz, welche ich kurz Scömbron benenne, habe ich dann in Verbindung mit den Histonen untersucht. Im Ganzen habe ich die zwei Histone, Gänsebluthiston und Thymushiston, das Globin und endlich das Scömbron untersucht. Da mir kein Protamin zur Verfügung stand, konnte ich die letzte Aufgabe, die Protamineiweissverbindung, nicht in Angriff nehmen, allerdings eine Lücke meiner Arbeit.

Meine Arbeitsmethode war die folgende:

Auf gewöhnliche Weise stellte ich mir Nucleohiston und Gänseblutkörperchenstroma dar, extrahirte diese mit 0,8 % iger HCl 24 Stunden, filtrirte die Lösungen und schlug die Histone durch Natronlauge nieder. Der Bodensatz wurde in ziemlich viel Wasser mit einer Spur HCl gelöst und die filtrirte Lösung wieder mit Natronlauge gefällt. Diese Procedur wurde mehrmals — ein bis drei Mal — wiederholt. Endlich bekam ich die

1) Deutsche med. Wochenschrift. 1894.

Histone nach Alkohol-Aetherbehandlung als weisses, staubendes Pulver, das sich nicht vollständig in verdünnter Salzsäure löste. Weiter wurden auch die Histone nach Kossel's Methode (Fällung der salzsauren Lösung mit Steinsalz, Dialyse und Fällung mit Aether-Alkohol) dargestellt.

Die Macrelensperma wurde zuerst mehrmals mit Alkohol ausgekocht, getrocknet und nun mit Salzsäure extrahirt. Das Extract wurde mit NaOH gefällt und dann wie oben angeführt weiter behandelt. Das Scombron war nach der Behandlung mit Alkohol und Aether gänzlich in verdünnter Salzsäure löslich. Scombronähnliche Körper lassen sich auch aus dem unreifen Sperma von Hering und Quappe darstellen.

Das Globin habe ich aus krystallisirtem Hämoglobin vom Pferde nach Schulz dargestellt.

Ich gehe nun zu meinen eigenen Untersuchungen über und fange mit der wichtigsten Reaction auf Histon, der Ammoniakreaction, an.

Die Ammoniakreaction.

Zuerst habe ich die Richtigkeit der Angaben Kossel's und Lilienfeld's über das Verhältniss des Gänsebluthistons und Thymushistons zu Ammoniak constatiren können. Auch Globin und Scombron gibt mit Ammoniak einen Niederschlag. Vier Umstände sind jedoch hier von der grössten Wichtigkeit zu bemerken:

1. das Verhältniss zu Ammoniak, wenn die Lösungen kein Ammoniaksalz oder keine Säure (wodurch ein Ammoniaksalz gebildet werden könnte) enthalten;
2. wenn die Lösungen ein Ammoniaksalz oder eine Säure enthalten;
3. ist die Relation zwischen Ammoniak und Ammoniaksalz wichtig und
4. ist es von Bedeutung, wie man das Ammoniak zusetzt (ob schnell oder langsam).

Was das erste Moment betrifft, so geben alle vier oben angeführten Körper (Gänseblut- und Thymushiston, Globin und Scombron) in neutraler Lösung, frei von Ammoniaksalzen, mit

Ammoniak einen Niederschlag. Dieser Niederschlag tritt jedoch beim Globin nur dann ein, wenn man sehr wenig Ammoniak zur Lösung setzt: schon ein Zusatz von 0,1% NH_3 gibt keine Fällung mehr. Setzt man dagegen eine solche NH_3 -Menge zu einer neutralen Lösung von Gänseblut- oder Thymushiston, so bekommt man eine reichliche Fällung. Enthalten aber diese Lösungen nicht zu viel Histon (von 0,5—1,0%), so braucht man auch in diesen Fällen nur etwa 0,5—1,0% Ammoniak zuzusetzen, um eine Fällung zu verhindern. Eine histonreichere Lösung braucht mehr NH_3 hierzu. Die Histone lösen sich also im Ueberschuss von Ammoniak, wenn die Lösungen kein Ammoniaksalz enthalten. Es ist von Bedeutung, dass man alles NH_3 auf einmal zusetzt, sonst ist der sich Anfangs bildende Niederschlag in NH_3 schwerer löslich, besonders wenn Kochsalz dabei ist. Haben die Histone eine längere Zeit in salzsaurer Lösung gestanden, so werden sie nach der Neutralisation besonders leicht im Ammoniak löslich, obwohl sie sonst gänzlich unverändert geblieben sind. Beim Scobron bekommt man auch mit Ammoniak einen Niederschlag, aber zum Unterschied von den Histonen und Globin tritt dieser Niederschlag ein, einerlei wieviel Ammoniak man auch zur Scobronlösung zusetzt. Es ist also unmöglich, eine ammoniakalische Lösung von Scobron zu bekommen.

Wir haben also gefunden, dass die Histone und das Globin sich in Ammoniak lösen können, wenn die Lösungen keine Ammoniaksalze enthalten, und werden jetzt untersuchen, wie sich die Sache bei Gegenwart von Ammoniaksalzen verhält.

Geht man von einer ammoniakalischen Lösung des Gänseblut- oder Thymushistons aus und setzt hierzu einige Tropfen einer Ammoniaksalzlösung, so kommt der Niederschlag wieder zum Vorschein. Welches Ammoniaksalz man hierzu benutzt, ist ganz gleichgültig: von Salmiak und Ammonsulfat braucht man nur bis 0,2% Salz der Lösung zuzusetzen, von essigsaurem Ammoniak mindestens 0,5%.

Die Histone sind also im Ueberschuss von NH_3

gänzlich unlöslich, wenn die Lösungen ein Ammoniumsalz enthalten, oder wenn die Bildung eines solchen durch den NH_3 -Zusatz stattfindet.

Vergleichen wir hiermit, was Schulz über Globin und dessen Verhältniss zum Ammoniak berichtet. Schulz fand, dass eine ammoniakalische Lösung von Globin durch Zusatz von Salmiak wieder niedergeschlagen wurde, resp. dass eine salzsaure Globinlösung durch Zusatz von NH_3 zwar gefällt, nicht aber durch weiteren Zusatz wieder gelöst wurde. In der That habe ich auch dasselbe gefunden: das Globin kann aus einer ammoniakalischen Lösung durch Salmiak, wie auch aus salzsaurer Lösung durch Ueberschuss von NH_3 niedergeschlagen werden. Hier ist also die Relation zwischen Ammoniak und Salmiak von grosser Wichtigkeit.

Geht man z. B. von einer etwas verdünnten Globinlösung in $0,1^0$ NH_3 aus, so entsteht der Niederschlag durch Zusatz von $2-3^0$ Salmiak wieder und ist nun im Ueberschuss von NH_3 schwer löslich. Wenn ich dagegen $0,3^0$ NH_3 anstatt $0,1^0$ NH_3 benutzte, so konnte der Niederschlag auch nicht durch Zusatz des gleichen Volumens 10^0 iger Salmiaklösung wieder hervorgerufen werden. Bei einer globinreicheren Lösung ist die Relation zwischen NH_3 und Salmiak eine andere, immer aber fordert die Salmiaklösung sehr wenig NH_3 in der Lösung, um den Niederschlag zu erzeugen.

Hierin sind also die Histone und das Globin verschieden. Denn bei den Histonen ist es ganz gleichgültig, wie viel oder wenig Ammoniak die Lösungen enthalten. Der Zusatz eines Ammoniumsalzes bringt immer den Niederschlag hervor. Auch ist es hier ganz gleich, ob die Lösungen arm oder reich an Histon sind.

Was nun das letzte Moment, das Verhältniss dieser Substanzen in salzsaurer Lösung beim Zusatz von NH_3 angeht, so sind die beiden Histone natürlich auch in diesem Falle im Ueberschuss von NH_3 gänzlich unlöslich — es wird ja hier ein Ammoniumsalz gebildet. Setzt man aber zur salzsauren Globinlösung einen Ueberschuss von Ammoniak, so wird der sich Anfangs bildende Niederschlag augenblicklich wieder gelöst, wenn man alles NH_3 auf einmal hinzufügt. Globinlösungen von

0.5° o, 0.8° o und 4.6° o HCl wurden z. B. durch Zusatz von NH_3 bis zu 0.5° o freiem NH_3 nicht niedergeschlagen.

Wenn ich dagegen das Ammoniak vorsichtig und successive zu der Globinlösung hinzufügte, so konnte ich zu einem ziemlich grossen Ueberschuss von NH_3 gelangen, ohne dass der Niederschlag sich wieder löste. Die Ursache hierfür ist, dass das Globin, aus einer Lösung, welche ein Ammoniak-salz enthält, niedergeschlagen, sehr bald im Ueberschuss von NH_3 unlöslich wird.

Vielleicht ist es nicht überflüssig, anzuführen, dass der Niederschlag durch Ammoniak in allen Fällen nur bei alkalischer Reaction der Lösungen eintritt. Neutralisirt man dagegen nun dieselbe mit NH_3 , so bekommt man selbstverständlich keine Fällung.

In ihrem Verhältniss zum Ammoniak zeigen also die Substanzen Scombron, die Histone und das Globin erhebliche Verschiedenheiten, indem sie theils in Ammoniak allein, theils in Ammoniak und Salmiak unlöslich sind, theilweise aber auch sich in Ammoniak und Salmiak lösen. Die einzige Uebereinstimmung bei allen ist, dass man durch vorsichtigen Zusatz von NH_3 einen Niederschlag bekommt, welcher bei Gegenwart von Salmiak im Ueberschuss von NH_3 unlöslich ist, wenn man das NH_3 vorsichtig zusetzt. Dies ist aber lange nicht etwas für die Histongruppe Charakteristisches. Ich habe nämlich gefunden, dass auch Vitellin sich ebenso verhält. Setzt man zu einer salzsauren Lösung von Vitellin vorsichtig NH_3 , so kann man einen bedeutenden Ueberschuss zusetzen, ohne dass der Niederschlag sich wieder löst. Aus vielen Organen habe ich mittelst Salzsäureextraction Eiweisskörper bekommen, die sich ebenso verhalten. Auch die gewöhnlichen Acidalbuminate (solche habe ich mir aus Hühnereiweiss und chemisch reinem Fibrin dargestellt) zeigen dasselbe. Das Acidalbuminat aus Fibrin zeigte noch eine Uebereinstimmung mit Globin darin, dass es, in wenig Ammoniak gelöst (die Lösungen enthielten also keine Ammoniaksalze!), durch einen folgenden Zusatz von Salmiak sehr reichlich aufs Neue niedergeschlagen wurde.

Wenn aber solche Uebergänge vom Scombron zu

den Acidalbuminaten gefunden wurden, so dürfte es ziemlich schwer fallen, der Ammoniakreaction eine besondere Bedeutung als Histoureaction einzuräumen.

Ehe ich die Ammoniakreaction verlasse, darf ich wohl noch anführen, dass der Niederschlag der Histone durch Ammoniak und Salmiak nach einiger Zeit auch in Säuren schwer löslich wird, während der Histonniederschlag gleich nach der Fällung sehr leicht in Säuren löslich ist. Sind dagegen die Histone durch Ammoniak allein ohne Salmiak niedergeschlagen, so bleibt auch nach längerer Zeit ihre Löslichkeit in Säuren unverändert.

Endlich habe ich mehrere Organe, wie Leber, Niere, Pancreas¹⁾ und Testes, auf Histone und histonähnliche Substanzen untersucht, habe aber keine gefunden. Diese Organe enthalten also kein Histon, das durch Extraction mit Salzsäure von 0,5% — 0,8% sich extrahiren lässt.

Wie Ammoniak schlagen auch die Alkalien und alkalischen Erden die Histone, das Scombron und Globin aus ihren neutralen Lösungen nieder. Im Gegensatz zur NH_3 -Fällung soll dieser Niederschlag im Ueberschuss von Alkalien leicht löslich sein.

Die Histone werden schon bei der geringsten alkalischen Reaction niedergeschlagen; dieser Niederschlag löst sich wieder, wenn der Alkaligehalt bis 0,1% steigt. Sind die Histone in Alkali gelöst, tritt auch der Niederschlag aufs Neue ein, wenn man mit einer Säure zurücktitrirt, zuerst, wenn nur ca. 0,01% freies Alkali in der Lösung ist.

Sind die Histone mit Alkali niedergeschlagen, so werden sie, wenn Kochsalz dabei ist, mit der Zeit schwerer und schwerer im Ueberschuss von Alkali löslich. Dagegen sind sie auch in diesem Falle in verdünnter Salzsäure ganz leicht löslich.

Das Globin verhält sich gegenüber Alkali wie die Histone. Es ist, wenn möglich, noch leichter löslich als diese.

Das Scombron wird auch von den Alkalien niedergeschlagen. Zum Unterschied von den Histonen fordert das

¹⁾ Pancreas enthält ziemlich viel Phosphate, die einen Histonniederschlag vortäuschen können.

Scombrom aber mehr Alkali zur Fällung und in Uebereinstimmung hiermit viel mehr Alkali zur Lösung des Niederschlages. Zum Beispiel konnte ich zu einer neutralen Scombromlösung von ca. 0,5^o Scombrom Alkali bis 0,05^o NaOH zusetzen, ohne irgend welche Fällung zu bekommen. Weiter konnte ich zu derselben Lösung auf einmal Alkali bis 1^o—1,5^o NaOH setzen, ohne dass der Niederschlag sich löste. Einmal mit grösserem Ueberschuss von NaOH gelöst, wurde das Scombrom bei Zurücktitrirung der Lauge bei einem Alkaligehalt von 1^o—1,5^o NaOH wieder niedergeschlagen. Das Scombrom ist also viel schwerer in Natronlauge löslich als die Histone. Dagegen stimmen sie darin überein, dass die Fällung unter Umständen quantitativ ist. Diese Eigenschaft in Verbindung mit der Leichtlöslichkeit der Niederschläge in Säuren habe ich zur Darstellung dieser Substanzen benutzt.

Endlich kann ich hinzufügen, dass sowohl die Histone, wie Scombrom und Globin durch 25^o ige Natronlauge aus ihren Lösungen niedergeschlagen werden.

Eine andere Reaction auf Histon ist die Erhitzungsprobe.

2. Das Verhältniss der Histone beim Kochen.

Eine neutrale Lösung von Gänsebluthiston soll nach Kossel beim Erhitzen der Lösung nicht coagulirt werden, während Thymushiston nach Lilienfeld beim Erhitzen seiner neutralen Lösung niedergeschlagen wird: übrigens der einzige Unterschied zwischen diesen Histonen, den man gefunden hat.

Dieser Unterschied ist aber nur ein scheinbarer. Inwieweit die Histone beim Kochen der Lösungen niedergeschlagen werden, hängt ganz einfach von dem Salzgehalt der Lösungen ab. Zum Beispiel kann man eine neutrale salzarme Lösung von Gänsebluthiston zum Kochen erhitzen, ohne dass eine Coagulation eintritt. Setzt man aber ca. 0,5^o Kochsalz zur Lösung, so coagulirt diese beim Erhitzen. Ebenso verhält sich Thymushiston. Thatsächlich findet keine Coagulation der Histone statt, sondern nur eine Fällung, die mit unveränderten Eigenschaften in einer Spur von Salzsäure äusserst leicht löslich ist. Diese Lösung kann man z. B. neutralisiren und nach Zusatz

von Kochsalz wieder durch Kochen niederschlagen. Scombron und Globin verhalten sich bei der Kochprobe wie die Histone.

Die Histone u. s. w. werden bei der Kochprobe nicht quantitativ niedergeschlagen. Ein geringer Rest bleibt im Filtrate zurück, während die Hauptmenge niedergeschlagen wird.

3. Die Salpetersäurereaction

ist die dritte Histonreaction. Wie die Albumosen werden auch die Histone (und das Scombron und Globin) von Salpetersäure niedergeschlagen: dieser Niederschlag löst sich beim Erwärmen der Lösung und kommt beim Erkalten wieder. Der Niederschlag besitzt auch die unveränderten Eigenschaften der Histone u. s. w.

Das Verhältniss der Histone, des Scombrons und des Globins zu den Salzen bietet nur wenig Interessantes. Von den Neutralsalzen geben Ammoniumsulfat und Chlornatrium einen Niederschlag sowohl bei neutraler als saurer Reaction, dagegen gibt Salmiak keine Fällung.

HgCl₂ schlägt die Histone und das Globin nicht nieder, wohl aber das Scombron, wie auch Mischer es bei seiner Albuminose aus Salmisperma gefunden hat.

Sowohl die Histone wie Scombron und Globin geben eine schöne Biuretreaction und eine starke Xanthoproteinreaction, die Millon'sche Reaction ist dagegen sehr schwach.

Keiner von diesen Körpern enthält eine Kohlehydratgruppe. Nach dem Kochen mit einer Säure fiel auch die Probe von Babo-Meissner negativ aus.

Von den anderen Histonreactionen, der Kochprobe und Salpetersäureprobe, haben wir also gesehen, dass die beiden Histone, das Scombron und Globin sämmtlich dieselbe geben. Man muss nun doch fragen ob die Histongruppe durch diese drei Reactionen, die Ammoniakreaction, die Kochprobe und die Salpetersäurereaction, genügend charakterisirt ist. Wenn man dies nun auch annehmen will, so wird doch nicht die Histongruppe so scharf charakterisirt, als z. B. das Meissner'sche Parapepton, wie man es durch eine kurzdauernde Digestion von Fibrin mit Magensaft bekommt, das sowohl eine Reaction mit Ammoniak wie die Acidalbuminate, als auch

die Salpetersäurereaction wie die Histone und Albumosen gibt. Das Parapepton ist also nicht viel mehr von dem Globin verschieden, als dies von den Histonen oder die Histone von dem Scombron.

Es ist deshalb ganz nothwendig, neue Reactionen zur Charakterisirung der Histongruppe zu finden. In der That ist es mir auch gelungen, zwei solcher zu entdecken. Die eine Reaction besteht in dem Verhältniss der Histone u. s. w. zu den Alkaloidreagentien,¹⁾ die andere in dem Verhältniss zum Eiweiss.

4. Das Verhältniss zu den Alkaloidreagentien.

Bekanntlich geben beinahe alle Eiweisskörper mit den sogenannten Alkaloidreagentien in saurer Lösung einen Niederschlag, während sie, wenn ihre Lösungen (und die Lösung des Fällungsmittels) neutral reagiren, nicht niedergeschlagen werden. So geben unter anderen Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Pikrinsäure, Ferrocyankalium und A mit einer saueren oder neutralen Eiweisslösung einen Niederschlag, während phosphorwolframsaures Natron, phosphormolybdänsaures Natron, pikrinsaures Natron und Ferrocyankalium eine neutrale Eiweisslösung nicht niederschlagen.

Diese neutralen Alkaloidreagentien sind dagegen exquisite Fällungsmittel für Histone und zugleich für Scombron und Globin in neutraler Lösung (selbstverständlich auch in saurer). Die von mir benutzten Alkaloidreagentien waren phosphorwolframsaures Natron (gesättigte Lösung), phosphormolybdänsaures Natron (5^{0,0}), pikrinsaures Natron (ⁿ/10), Ferrocyankalium (2^{0,0}). Die Histonlösungen u. s. w. waren etwa 0,5^{0,0}—1^{0,0}.

In ihrem Verhältniss zu den Alkaloidreagentien bieten die zwei Histone, das Scombron und das Globin, einige individuelle Verschiedenheiten dar.

Die Histone werden aus neutraler Lösung, nicht aber aus ihren Lösungen in Alkali durch die Alkaloidreagentien niedergeschlagen. Dieser Niederschlag ist sehr leicht löslich in Alkali. Die Fällung ist beinahe quantitativ.

¹⁾ Siehe S. 464.

Das Globin wird aus neutraler, nicht aber aus alkalischer Lösung niedergeschlagen. Phosphorwolframsaures Natron fällt eine neutrale Globinlösung nur dann, wenn sehr wenig Reagens zur Lösung gesetzt wird. Setzt man viel von diesem Reagens zu der Globinlösung, so bleibt die Fällung aus. Die Ursache hierfür ist wahrscheinlich die, dass die Lösung des phosphorwolframsauren Natrons etwas alkalisch reagiert, und die Globinfällung ist besonders leicht in Alkali löslich. Weiter wird das Globin nur unvollständig von den Alkaloidreagentien bei neutraler Reaction niedergeschlagen, so dass man im Filtrate von diesen Niederschlägen durch Zusatz einer Säure eine neue Fällung bekommen kann. Eine Untersuchung dieser letzten Fällung zeigte, dass sie auch aus Globin bestand. Es liegen also hier nicht zwei Substanzen vor.

Das Scombron wird bei neutraler und auch bei schwacher alkalischer Reaction¹⁾ der Lösung niedergeschlagen. Dieser Niederschlag ist im Ueberschuss von Alkali schwer löslich.

5. Das Verhältniss zu Eiweisslösungen

ist die andere neue Eigenschaft der Histongruppe, die ich gefunden habe.

Setzt man zum Blutserum eine neutrale Histonlösung, so bekommt man einen reichlichen Niederschlag. Dasselbe tritt sowohl bei Gänseblut- und Thymushiston, als auch bei Scombron und Globin ein. Alle diese Substanzen besitzen also eine eiweissfällende Eigenschaft. Da nun aber Blutserum viele verschiedene Substanzen enthält, habe ich es vorgezogen, diese Eigenschaft der Histongruppe an reinen Eiweissgruppen zu studiren. Von solchen habe ich benutzt: Lösungen von Oxalbumin (0,8^o o), von Serumglobulin (0,5^o o) und von Casein (0,6^o o Casein mit neutraler Reaction.) Die Lösungen der Histone, des Scombrons und des Globins waren 1^o oig.

Setzte ich nun zu einer solchen Eiweisslösung die Lösung des Histons u. s. w., so bekam ich einen der Histonmenge entsprechenden grösseren oder geringeren Niederschlag. Diese

¹⁾ Wenn nämlich so wenig Alkali dabei ist, dass das Scombron noch nicht niedergeschlagen worden ist.

Fällung, welche bei neutraler Reaction eintrat, war unter Umständen beinahe quantitativ und zwar so, dass ein Theil Histon ca. zwei Theile Casein und Serumglobulin, aber nur ca. einen Theil Ovalbumin niederschlug. Dieser Niederschlag war sehr leicht in Säuren löslich und kam wieder bei Neutralisation der Lösung. Der Niederschlag war auch in Alkalien (ca. 0,2% NaOH genügt) und Ammoniak löslich. Diese ammoniakalische Lösung gab nun mit Salmiak keine Fällung, wenn ein kleiner Ueberschuss von Eiweiss da war. Die Histone selbst sind aber in Ammoniak und Salmiak, wie vorher gezeigt worden ist, vollkommen unlöslich. Das Scombron und Globin verhalten sich in dieser Beziehung ganz ähnlich wie die Histone. Also das Scombron, welches selbst in Ammoniak unlöslich ist, giebt mit einer Eiweisslösung einen Niederschlag, welcher in Ammoniak ganz leicht löslich ist.

Die Histone und das Globin geben auch, in einem Minimum von Alkali, also ca. 0,1%, gelöst, mit einer neutralen Eiweisslösung einen Niederschlag. Die Histoneiweissverbindung ist also schwerer in Alkalien löslich, als die Histone selbst. (Nicht allein die nativen Eiweisskörper geben mit den Histonen einen Niederschlag. Auch die Albumosen verhalten sich ganz ähnlich.)

Durch diese zwei Reactionen — das Verhältniss zu den Alkaloidreagentien und zum Eiweiss — könnte man in Verbindung mit den übrigen alten Reactionen die Histongruppe als eine wohl charakterisirte Eiweissgruppe ansehen, deren Unterscheidungsmerkmale von den übrigen Hauptgruppen viel prägnanter sind als z. B. die Unterscheidungsmerkmale zwischen Albuminen und Globulinen. Besonders die zwei zuletzt besprochenen Reactionen dürfte man als besonders eigenthümliche und, wie wir sogleich sehen werden, bedeutungsvoll ansehen.

Sie sprechen nämlich für eine mögliche Verwandtschaft der Histongruppe mit dem Protamin. Das Protamin wird auch von den Alkaloidreagentien bei neutraler und auch schwach alkalischer Reaction niedergeschlagen und schlägt selbst Eiweiss nieder. Diese Protamineiweissverbindung ist auch als ein Histon angesehen worden. Da nun die Histone auch Eiweiss-

verbindungen eingehen, so müssten in diesem Falle die Histone als ungesättigte Protamineiweissverbindungen aufgefasst werden. Die Histone stehen dann in demselben Verhältniss zu den Histoneiweissverbindungen, wie z. B. die Nucleine, die ja Nucleinsäure-Eiweissverbindungen sind, zu ihren Nucleoproteiden.¹⁾

In der That sind aber die zwei neuen Reactionen ebensowenig etwas für die Histone Charakteristisches, wie die übrigen alten. Als ich nämlich auch andere Eiweisskörper genau untersuchte, fand ich, dass einige von diesen auch von Alkaloidreagentien bei neutraler Reaction niedergeschlagen wurden und auch selbst Eiweiss fällten.

Was die eiweissfällende Eigenschaft betrifft, so war diese schon vorher nicht unbekannt. Hammarsten²⁾ hat nämlich gefunden, dass eine dialysirte Fibrinogenlösung mit dialysirtem Blutsrum einen Niederschlag gibt. Weiter hat Kutscher³⁾ nachgewiesen, dass das Witte'sche Pepton Substanzen enthält, welche Eiweiss fällen. Die Richtigkeit von Kutscher's Beobachtung habe ich constatiren können. Weiter fand ich aber, dass eine Lösung von Witte'schem Peptone, die doch alkalisch reagirt, mit einer Lösung von phosphorwolframsäurem Natron phosphormolybdänsäurem Natron oder pikrinsäurem Natron versetzt, einen nicht unbedeutenden Niederschlag gab. Wenn ich nun diesen Niederschlag mit Baryt zersetzte, das Filtrat auf gewöhnliche Weise vom Baryt befreite, zuletzt die Lösung mit Alkohol fällte und den Niederschlag in Wasser löste, dann bekam ich eine Lösung, die sowohl mit den oben genannten Alkaloidreagentien einen Niederschlag gab, als auch Eiweiss (nicht aber Ovalbumin) niederschlug. Die Lösung gab keine Ammoniakreaction; dagegen eine Salpetersäurereaction wie die Histone. Die Biuretreaction und die Millon'sche Reaction waren positiv. Ich fand weiter, dass nur diese Substanz es ist,

1) Noch eine Aehnlichkeit mit Protamin bieten die Histone und das Scombron dadurch, dass sie einen deutlich adstringirenden Geschmack haben, wie schon Miescher es für das Protamin fand.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXII.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXIII.

die von den Albumosen und Peptonen im Witte'schen Peptone-Eiweiss fällt. Da nun aber das Witte'sche Pepton aus gewöhnlichem, also unreinem Fibrin dargestellt ist, das z. B. Reste von weissen und rothen Blutkörperchen, die der Ursprung dieser Substanzen sein könnten, enthalten kann, so habe ich es als nothwendig angesehen, die Digestionsprodukte von reinem Fibrin zu untersuchen. Dies Fibrin habe ich mir aus dreimal gereinigtem Fibrinogen und Fibrinferment von Alex. Schmidt dargestellt. Durch eine kurzdauernde peptische Verdauung dieses Fibrins bekam ich eine Lösung, aus welcher ich nach Neutralisation eine nicht so geringe Menge einer Albumose durch phosphorwolframsaures Natron niederschlagen konnte. Die Lösung dieser Albumose (oder Albumosen) gab mit einer Eiweisslösung (doch nicht Ovalbumin) einen Niederschlag und wurde natürlich von den obengenannten Alkaloidreagentien niedergeschlagen. Die Lösung gab nicht eine Ammoniakreaction, wohl aber die Salpetersäureprobe. Beim Kochen der salzhaltigen neutralen Lösung wurde die Albumose coagulirt. Das Coagulat war in Säuren schwer löslich (im Gegensatz zu dem Niederschlage der Histone beim Kochen). Die Lösung gab mit den Neutralsalzen NaCl und Am_2SO_4 einen Niederschlag. Die Biuretreaction und Millon'sche Reaction waren positiv.

Nicht allein die Verdauungsflüssigkeit vom Fibrin enthielt solche eigenthümlichen Albumosen, auch von Albumin und Casein habe ich solche bekommen. Die Substanz scheint aber hier in geringerer Menge vorzukommen.

Diese Beobachtungen, dass die gewöhnlichen Eiweisskörper durch eine peptische Digestion unter vielen anderen auch in eine Componente gespalten werden, welche auch diese zwei neuen Reactionen gibt, hat nach meiner Ansicht ein nicht geringes Interesse.

Ich darf wohl daran erinnern, dass die Protamine diesen zwei Reactionen gegenüber sich ebenso verhalten und auch nicht von Ammoniak niedergeschlagen werden. Die Digestionsprodukte sind aber echte Eiweisskörper, indem sie auch die Millon'sche Reaction und die Salpetersäureprobe geben, was die Protamine nicht thun. Ob eine nähere Verwandtschaft

hier vorliegt, können natürlich erst fortgesetzte Untersuchungen entscheiden.

Nachdem ich so die Histonreactionen im Verhältniss zu den Histonen, dem Scombron und dem Globin sowie zu einigen anderen Eiweisskörpern untersucht habe, gehe ich nun zu meinen Untersuchungen über die elementare Zusammensetzung der Histone über.

Eine solche Untersuchung liegt für das Gänsebluthiston, das Globin und theilweise für das Thymushiston vor.

Nach Kossel hat Gänsebluthiston folgende Zusammensetzung.

C 50,67%—52,31% H 6,99%—7,09% N 17,93—18,46% S 0,50%.

Lilienfeld gibt für Thymushiston folgende Zusammensetzung an:

C 52,34% H 7,31% N ? S ?.

Schulz's Analysen zeigen für das Globin:

C 54,97% H 7,20% N 16,89% S 0,42%.

Von den Histonen habe ich Gänsebluthiston und Thymushiston nur auf Stickstoff untersucht.

Für Gänsebluthiston (die Präparate waren 3—4mal mit NaOH niedergeschlagen) habe ich als Durchschnitt mehrerer Analysen einen Stickstoffgehalt von **17,48%** gefunden, auf aschefreie Substanz berechnet. Diese Zahl ist niedriger als die Kossel's. Vielleicht lässt sich der Unterschied dadurch erklären, dass Kossel und ich verschiedene Methoden zur N-Bestimmung benutzt haben (Dumas und Kjeldahl), und das Gänsebluthiston war jedenfalls nach Kjeldahl schwer verbrennlich.

Thymushiston zeigte einen Stickstoffgehalt von **18,35%** als Durchschnitt mehrerer Analysen (4mal mit NaOH niedergeschlagen), auf aschefreie Substanz umgerechnet. Die Asche des Thymushistons enthielt viel Eisen.

Das Globin habe ich nicht analysirt. Von dem Scombrone habe ich eine vollständige Elementaranalyse ausgeführt. Ich werde die Resultate etwas eingehender beschreiben.

Ich hatte schon eine Reihe N-Analysen von viermal gereinigtem Scombrone mit dem Resultate 17,80% N gemacht, als eine Aschebestimmung lehrte, dass das Scombron ca. 12%

Asche enthielt. Die corrigirte N-Bestimmung sollte dann einen Stickstoffgehalt von über 19% N zeigen. Die Asche bestand hauptsächlich aus phosphorsaurem Kalk und Magnesia. Ich habe deswegen sämtliche Scombronpräparate der Dialyse unterworfen, und nun zeigte die Aschebestimmung 0.2—0,4% Asche. Natürlich habe ich auch durch Kontrollversuche festgestellt, dass das gereinigte Scombron seine qualitativen Reactionen unverändert beibehalten hatte.

1. Die Stickstoffanalysen.

- Präparat I. Abgewogen 0,0934 gr. Substanz n_{10} H_2SO_4
 verbraucht = 13,25 ccm. = 18,55 mgr. N = **19,86%**.
- Präparat II. Abgewogen 0,0801 gr. Substanz n_{10} H_2SO_4
 verbraucht = 11,20 ccm. = 15,68 mgr. N = **19,60%**.
- Präparat III. Abgewogen 0,1338 gr. Substanz n_{10} H_2SO_4
 verbraucht = 18,95 ccm. = 26,53 mgr. N = **19,83%**.
- Präparat IV. Abgewogen 0,1102 gr. Substanz n_{10} H_2SO_4
 verbraucht = 15,60 ccm. = 21,84 mgr. N = **19,87%**.

2. C- und H-Analysen.

- Präparat I. Abgewogen 0,2560 gr. Substanz
 CO_2 = 0,4693 gr. = **50,04%** C.
 H_2O = 0,1607 „ = **7,00%** H.
- Präparat II. Abgewogen 0,1908 gr. Substanz
 CO_2 = 0,3464 gr. = **49,54%** C.
 H_2O = 0,1200 „ = **7,44%** H.
- Präparat III. Abgewogen 0,2718 gr. Substanz
 CO_2 = 0,4985 gr. = **50,00%** C.
 H_2O = 0,1770 „ = **7,25%** H.

3. S-Analyse.

- Abgewogen 0,7820 gr. Substanz
 $BaSO_4$ = 0,0452 gr.
 S = 0,0062 „ = **0,79%**.

Stellen wir die Zahlen zusammen, so bekommen wir folgende Tabelle:

	C	H	N	S
Präparat I.	50,04	7,00	19,86	0,79
„ II.	49,54	7,44	19,60	—
„ III.	50,00	7,25	19,83	—
„ IV.	—	—	19,87	—
Durchschnitt	49,86	7,23	19,79	0,79.

Das Scombron enthielt keinen Phosphor.

Vergleichen wir nun die elementare Zusammensetzung der verschiedenen Körper Gänseblut- und Thymushiston, Globin und Scombron, so werden wir einen nicht unerheblichen Unterschied bemerken. Der Uebersicht wegen stelle ich sie zu einer Tabelle zusammen.

	Gänsebluthiston	Thymushiston	Globin	Scombron
C	50,67—52,31	52,34	54,97	49,86
H	6,99— 7,09	7,31	7,20	7,23
N	17,48 [17,93—18,46]	18,35	16,89	19,79
S	0,50	—	0,42	0,79

Während also alle Körper ungefähr denselben Wasserstoffgehalt besitzen, sind sie in Beziehung auf C und N von einander sehr verschieden, indem Scombron nur 49,86% C, Globin dagegen 54,97% C, also 5% mehr, enthält. Umgekehrt hat Scombron 19,79% N, das Globin dagegen nur 16,89% N = 3% N weniger. Die Histone können wir als Glieder einer Reihe zwischen diese beiden Substanzen stellen. Alle Substanzen enthalten Schwefel in lockerer Bindung.

Der N-Gehalt des Scombrons von 19,79% N bezeichnet das Scombron als den stickstoffreichsten Eiweisskörper, den man bis zum heutigen Tage untersucht hat.

Neben der elementaren Zusammensetzung hat es natürlich auch ein Interesse, die Spaltungsprodukte dieser Körper beim Kochen mit einer Säure und bei der Digestion mit Pepsinsalzsäure zu untersuchen.

Spaltungsversuche der Histone durch Kochen mit einer Säure habe ich nicht gemacht, da ich aus einer Notiz Fr. Müller's in der Deutschen med. Wochenschrift 1899 erfahren habe, dass solche noch nicht publicirten Untersuchungen von Kossel vorliegen. Das Histon soll ca. 40% Stickstoff in Form von Hexonbasen enthalten. Für das Scombron habe ich bei einem vorläufigen Versuche gefunden, dass dieser Körper merkwürdiger Weise nicht mehr Stickstoff in Form der Hexonbasen enthält.¹⁾

¹⁾ Bei meinen Spaltungsversuchen habe ich mich genau nach Wetzels Angaben (diese Zeitschrift. Bd. XXVf) gerichtet.

Hinsichtlich der Einwirkung von Magensaft auf diese Substanzen liegt nur eine Untersuchung des Globins von Schulz vor. Durch eine kurzdauernde Digestion des Globins mit Magensaft wurde nur echtes Pepton erhalten.

Ich habe Digestionsversuche mit Thymushiston und Scombron vorgenommen.

Digestionsversuch mit Thymushiston.

Durch eine Digestion mit Pepsinsalzsäure von 5 gr. Thymushiston während dreier Tage wurde das Histon vollständig gespalten. Ammoniak und Salmiak gaben nun keinen Niederschlag mehr. Die neutralisirte Flüssigkeit wurde von den neutralen Alkaloidreagentien reichlich gefällt, gab mit Eiweiss keinen Niederschlag, wurde aber selbst von einer neutralen Histonlösung niedergeschlagen.

Die Lösung enthielt eine geringe Menge einer Substanz, welche mit Kochsalz niedergeschlagen werden konnte. (Spur von nicht zerstörtem Histon?). Nachdem das Kochsalz durch Dialyse, wobei eine nicht geringe Menge einer Biuret gebenden Substanz ins Dialysat ging, entfernt war, wurde eine Probe der Lösung auf Albumosen untersucht, aber mit zweifelhaftem Resultate. Solche dürften deswegen nur in sehr geringer Menge vorkommen. Die Flüssigkeit wurde dann stark eingeeengt und in Alkohol gegossen. Man bekam einen in Alkohol schwerlöslichen und einen leichtlöslichen Theil.

Der in Alkohol schwerlösliche Theil wurde einige Male in Wasser gelöst und aufs Neue mit Alkohol niedergeschlagen. Die Substanz wurde nun nicht von den Alkaloidreagentien gefällt und gab mit einer Eiweisslösung keinen Niederschlag. Mit concentrirter Natronlauge (25° o) bekam ich keine Fällung.

Der andere, in Alkohol leichtlösliche Theil, der auch nach dem Eindampfen zur Trockne in 96° oigem Alkohol löslich war, gab mit den Alkaloidreagentien eine reichliche Fällung und schlug selbst eine Eiweisslösung nieder. Dies braucht nicht als ein Widerspruch gegen die Beobachtung, dass die ursprüngliche Lösung Eiweiss nicht fällte, angesehen zu werden. Denn es konnten zuerst Substanzen vorhanden sein, welche

die Ausfällung hinderten, oder die Menge der eiweissfällenden Substanzen war zu gering, um ihre Wirkung geltend zu machen: sie trat erst dann hervor, als die Lösung concentrirter war. Die Substanz wurde auch von 25% Natronlauge niedergeschlagen.

Dass diese Substanz Eiweiss fällt, hat sein grosses Interesse. Es zeigt nämlich, dass das Histon, welches selbst Eiweiss niederschlägt, unter Anderem auch in eine eiweissfällende Componente gespalten werden kann: welche mit Protamin eine grosse Aehnlichkeit zeigt.

A priori steht auch der Annahme nichts im Wege, dass hier wirklich ein Protamin vorkommen kann, da nach Kossel die Protamine selbst nach längerer peptischer Digestion nicht weiter verändert werden. Die Substanz verhält sich auch in der That in mehrfacher Beziehung wie ein Protamin:

Sie schlägt Eiweiss nieder wie Protamin, wird von den Alkaloidreagentien niedergeschlagen wie Protamin, coagulirt nicht beim Kochen, gibt keine Fällung mit Salpetersäure wie Protamin, gibt keine Millon'sche Reaction, aber eine schöne Biuretreaction (und Xanthoproteinreaction): sämtlich Reactionen, die für die Protamine charakteristisch sind. Dass die Substanz von Salzen nicht niedergeschlagen wird, ist natürlich von untergeordneter Bedeutung.

So verlockend auch ein solcher Schluss, speciell mit Rücksicht auf Kossel's Histontheorie, ist, so wage ich doch noch nicht einen solchen zu ziehen. Erst die Elementaranalyse, zu welcher ich mir jetzt Analysenmaterial sammle, wird die Sache entscheiden.

Ein Digestionsversuch mit Scobron

zeigte, dass hier ganz andere Verhältnisse vorlagen, als beim Thymushiston.

Wurden nämlich 5 gr. Scobron mit Pepsinsalzsäure¹⁾ digerirt, so konnte ich nach mehreren Tagen keine Veränderung

¹ Die Pepsinlösung war dieselbe wie bei dem Digestionsversuch mit Thymushiston.

der Lösung beobachten, anscheinend war alles Scombron unverändert. Ich setzte dann die Digestion unter Erneuerung des Pepsins fort.

Nach einer Digestion von drei Wochen wurde die Lösung untersucht. Der allergrösste Theil des Scombrons war dann anscheinend unverändert d. h. er konnte auf gewöhnliche Weise durch NaOH niedergeschlagen werden. Das Filtrat dieser Fällung gab eine ganz starke Biuretreaction. Ferner bekam man mit den Alkaloidreagentien in neutraler Lösung einen starken Niederschlag. Weiter gab die Lösung mit Eiweisslösungen (auch Hühnereiweiss) einen Niederschlag. Dieser Niederschlag, der also durch das alkalische Filtrat der Scombronfällung entstand, verhielt sich ganz eigenthümlich. Er war nämlich im Ueberschuss von Ammoniak unlöslich, während, wie man sich wohl erinnert, die Verbindung des Scombrons mit Eiweiss im Ueberschuss von Ammoniak sehr leicht löslich war. Der Niederschlag war auch in Alkalien nicht sehr leicht löslich. Dagegen war er in Säuren ganz leicht löslich, und wenn man nun diese saure Lösung neutralisirte, bekam man keine Fällung: erst wenn die Lösung alkalisch wurde, trat der Niederschlag aufs Neue ein — auch im Gegensatz zum Scombron, welches Eiweiss auch bei neutraler Reaction niederschlägt.

Das Filtrat der Scombronfällung wurde nun mit Ammoniumsulfat gesättigt, wodurch eine nicht unbedeutende Fällung entstand. Diese Fällung enthielt die Hauptmenge der Digestionsprodukte des Scombrons. Auch die neulich besprochenen Substanzen kamen hier vor.

Die Fällung von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ zeigte noch folgendes eigenthümliche Verhalten. Beim Kochen mit Millon's Reagens bekam man eine prachtvolle rothe Lösung, ganz wie bei Tyrosin oder Phenol, während der Bodensatz vollkommen ungefärbt war.

Nachdem die grösste Menge des $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ durch Concentration und Alkohol aus dem Filtrate der $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällung entfernt worden war, konnte nur ein sehr geringer Rest der Digestionsprodukte nachgewiesen werden. Dieser Rest gab

auch mit den Alkaloidreagentien einen Niederschlag und fällte selbst Eiweiss (doch nicht Hühnereiweiss).

Dieser Digestionsversuch, welchen ich mit grösseren Mengen Scombron zu wiederholen gedenke, um die Spaltungsprodukte genauer zu studiren, zeigt, wie verschieden sich das Scombron und das Thymushiston verhalten. Es regen auch diese Versuche zu neuen Untersuchungen an, welche ich später ausführen zu können hoffe.

Nachdem ich so die qualitativen Reactionen, die elementare Zusammensetzung und die Digestionsprodukte der Histone, des Scombrons und des Globins besprochen habe, kommen wir endlich zu der Frage, ob man diese verschiedenen Körper zu einer gemeinsamen Gruppe, der Histongruppe, zusammenfassen kann und was dann für diese Gruppe als charakteristisch angesehen werden kann.

In der Elementaranalyse haben wir zwischen den verschiedenen Gliedern der Histongruppe nicht unerhebliche Verschiedenheiten gesehen. Aber dies kann nicht der Zusammenfassung der Substanzen hindernd im Wege stehen, da z. B. die Mucine in ihrem Stickstoffgehalte nicht weniger untereinander variiren wie diese Körper.

Grösseres Bedenken gegen eine solche Zusammenfassung erweckt schon die grosse Verschiedenheit des Scombrons und Thymushistons bei Digestion mit Magensaft. Da aber die Untersuchungen hier noch nicht vollständig zu Ende geführt sind, so kann dieses Moment auch nicht ausschlaggebend sein.

Es bleiben dann noch die qualitativen Reactionen. Von diesen sind keine an und für sich für die Histongruppe charakteristisch. Die Kochprobe und die Salpetersäureprobe sind nicht charakteristisch, noch weniger Werth darf man auf die Ammoniakreaction legen. Die am meisten eigenthümlichen Reactionen, das Verhältniss zu den Alkaloidreagentien und zum Eiweiss, sind auch nicht etwas für die Histongruppe Charakteristisches. Wenn man deswegen die Histongruppe charakterisiren will, muss man diese sämtlichen fünf Reactionen zusammen aufstellen.

Dem gegenwärtigen Standpunkte unseres Wissens entsprechend, finde ich es auch berechtigt, eine solche Eiweissgruppe aufrecht zu erhalten und überlasse es der Zukunft, zu entscheiden, ob man sämtliche Reactionen beibehalten kann oder nicht, d. h. ob man auch andere Substanzen, z. B. die Digestionsprodukte des gewöhnlichen Eiweisses u. A., mitnehmen will oder auf der anderen Seite einige Glieder der Histongruppe ausrangiren muss.

Bis auf Weiteres werden also die Histone dadurch definiert, dass sie in neutraler Lösung durch vorsichtigen Zusatz von Ammoniak niedergeschlagen werden (der Niederschlag wird bei Gegenwart eines Ammoniaksalzes sehr bald im Ueberschuss von Ammoniak unlöslich) und dass sie von Salpetersäure niedergeschlagen werden. Beim Erhitzen der Lösung löst sich der Niederschlag und kommt beim Erkalten wieder. Drittens werden die Histone beim Kochen der neutralen Lösung gefällt, wenn die Lösungen etwas Kochsalz enthalten, nicht aber, wenn die Lösungen salzarm sind. Viertens werden die neutralen Lösungen der Histone von den neutralen Lösungen der Alkaloidreagentien niedergeschlagen und fünftens besitzen sie eiweissfällende Eigenschaften.

Als Histone können wir Gänseblut- und Thymushiston, Scombron und Globin zusammenfassen.

Die vorliegende Untersuchung ist mit Unterstützung des Houten'schen Legates ausgeführt.