

## Zur Erwiderung an Herrn Kutscher.<sup>1)</sup>

Von

M. Hahn und L. Geret.

(Der Redaction zugegangen am 30. Juli 1901.)

In seiner ersten Mittheilung über die Selbstverdauung der Hefe (20. Juni 1900) hat Herr Kutscher das Urtheil gefällt: Die Arbeiten von Salkowski und Hahn haben über die Natur des proteolytischen Enzyms in der Hefe und den Abbau, den die Eiweisskörper durch denselben erfahren, nichts wesentlich Neues ergeben. Dieses Urtheil des Herrn Kutscher hätte uns zu einer Erwiderung nicht veranlassen können: denn es gibt ja ausschliesslich Herrn Kutscher's Ansicht wieder, die er nicht weiter begründet, und die zweite, ausführliche Publication über den gleichen Gegenstand enthält diese vernichtende Kritik schon nicht mehr. Eine Erwiderung Salkowski's hat allerdings Kutscher veranlasst, sein erstes Urtheil noch dreimal zu wiederholen. Aber selbst dieses Vorgehen hätte uns nicht bewegen können, uns zu äussern, sondern wir würden auch diesmal die Kritik des Herrn Kutscher gefasst getragen haben, wenn sich nicht neuerdings wieder herausgestellt hätte, dass Kutscher 1. unsere ausführliche Publication über den Gegenstand gar nicht kennt, trotzdem sie bald ein Jahr gedruckt vorliegt (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 40, S. 117—172); 2. er den Zweck unserer Untersuchungen gar nicht richtig gewürdigt hat; 3. er auch in der Frage des proteolytischen Enzyms der Tuberkelbacillen uns eine falsche Unterstellung macht.

ad 1. In seinen sämtlichen Publicationen bezieht sich Kutscher nur auf unsere Mittheilungen in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft, deren Publicationsgebrauch

<sup>1)</sup> Vgl. 1. Sitzungsberichte d. Gesellsch. z. Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg, Nr. 5, 1900 und Nr. 6, 1901.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 59—78 und S. 419—424.

<sup>3)</sup> H. H. Saylor's Zeitschrift f. physiol. Chemie, XXXIII.

bekanntlich ausführlichere Darstellungen ausschliesst. Wir haben uns hier wesentlich mit der Veröffentlichung analytischer Daten begnügt.

ad 2. Die Publication in der Zeitschrift für Biologie lässt aber klar und deutlich erkennen, was eigentlich der Zweck unserer Untersuchungen war und dass dieser von den durch Kutscher verfolgten Zielen wesentlich abwich. Eine Enzymwirkung kann man nur mit Sicherheit constatiren, wenn das Enzym sich von der Zelle abtrennen lässt, d. h. wenn also die Spaltungs- und Hydratationsvorgänge mit Hülfe einer zellfreien Lösung hervorgerufen werden können. Sind noch Zellen zugegen, so wird immer wieder der Einwand auftauchen können, dass die Vorgänge mit dem Leben oder Ueberleben der Zelle verknüpft seien. Die von E. Buchner und Hahn ausgearbeitete Pressmethode ermöglichte nun aber die Herstellung einer zellfreien Enzymlösung und setzte uns in den Stand, auch die Eigenschaften des Enzyms näher zu studiren. Sind noch Zellen vorhanden, ist das Enzym nicht vollständig in der Flüssigkeit gelöst, so werden die Studien über das Temperaturoptimum, die zur Wirkung erforderliche Reaction nie völlig correcte Resultate ergeben können und es wird Niemand einfallen, die Eigenschaften des Pepsins in einer Flüssigkeit, die neben Eiweiss und Salzsäure kleine Stücke eines Schweinemagens enthält, zu studiren, wenn ihm isolirtes und lösliches Pepsin zur Verfügung steht. Es ist daher auch nicht wunderbar, dass unsere Resultate, die mit zellfreien Enzymlösungen gewonnen sind, in manchen Punkten etwas abweichen von denjenigen, die Kutscher durch Digestion abgetödteter oder überlebender Zellen erhalten hat. Nach unseren Versuchen tritt die Biuretreaction nur ganz vorübergehend, nur ganz schwach auf, sie ist durch das Vorhandensein sehr geringer Mengen von Albumosen bedingt. Denn nach Ausfällung derselben mit Ammonsulfat fehlt die Reaction. Die Albumosen sind nur ganz vorübergehend nachzuweisen, Pepton, im Sinne Kühne's, nie. Kutscher fand nach seiner ersten Mittheilung zunächst «lebhaft Biuretreaction». Kutscher hat ferner die Bildung von Ammoniak nachweisen können, während neuerdings von

uns angestellte Versuche mit Hefepresssaft keine Vermehrung der anfänglich vorhandenen, sehr geringen Ammoniakmengen während der Digestion erkennen liessen (Destillation mit  $\text{BaCO}_3$ ). Kutscher fand ferner, dass die Spaltungsvorgänge nicht beeinflusst wurden, wenn er die Hefesuspension mit Natriumcarbonat schwach alkalisch machte, und er empfiehlt sogar, Hefe und Hefepresssaft zum Ersatz des tryptischen Enzyms bei Erkrankungen des Pancreas zu verordnen. Unsere Versuche zeigen, dass ein Zusatz von 0,5% Soda genügt, um die Wirkung des Enzyms um circa 50% herabzusetzen. Es ist also nicht von der Hand zu weisen, dass sich diese zellfreien Enzymlösungen anders verhalten, wie die Suspension enzymhaltiger Zellen, und jedenfalls müssen sie für das Studium der Eigenschaften des Enzyms, namentlich auch seines Verhaltens gegen physikalische und chemische Agentien, geeigneter erscheinen. Dass die Hefeaufschwemmungen zur Untersuchung der Spaltungsprodukte brauchbar sind, darüber besteht kein Zweifel und wir haben es im Interesse der wissenschaftlichen Forschung nur dankbar begrüsst, dass Kutscher mit den von Kossel ausgearbeiteten Methoden an die Untersuchung dieser Frage heranging. Wir können es aber nicht billigen, wenn er ausschliesslich die Spaltungsprodukte als massgebend für die Klassificirung der Enzyme ansieht und sich das Recht vindicirt, das proteolytische Hefeenzym jetzt einfach als Hefetrypsin zu benennen. Die Reaction, welche die Enzyme zur Wirkung benöthigen, ist schliesslich auch von nicht zu unterschätzender Bedeutung für die Klassificirung und das proteolytische Enzym der Hefe unterscheidet sich eben ganz wesentlich dadurch vom Pancreas-trypsin, dass es seine kräftigste Wirkung bei saurer Reaction entfaltet. Um in der Bezeichnung einen Unterschied zum Ausdruck zu bringen, haben wir es vorgezogen, schon vor Kutscher das Enzym als «Hefeendotrypsin» zu bezeichnen. Wir sehen uns umsomehr veranlasst, an dieser differenzirenden Bezeichnung festzuhalten, als neuere Untersuchungen (Jacoby, Diese Zeitschr., Bd. XXX, S. 149) dargethan haben, dass auch bei der autolytischen Spaltung, wie sie unter dem Einflusse proteolytischer Fermente in thierischen Organen vor

sich geht, der zeitliche Ablauf der Spaltung uns die Menge der Endprodukte eine völlige Identificirung mit der Trypsinwirkung nicht zulassen. Darnach scheinen die «Endoenzyme» der thierischen Zellen ganz ähnliche Eigenschaften zu besitzen, wie das Endotrypsin der Hefe. Dass übrigens Wroblewski schon Glutaminsäure und Asparaginsäure unter den Spaltungsprodukten nachgewiesen hatte, scheint Kutscher ganz entgangen zu sein.

3. In einer neueren Publication<sup>1)</sup> beschäftigt sich Kutscher nun auch mit dem proteolytischen Enzym der Tuberkelbacillen. In seiner ersten Veröffentlichung hatte der eine von uns (H.) darüber Folgendes gesagt: «Sodann konnten wir auch aus Tuberkel- und Typhusbacillen mittelst der Pressmethode eiweisshaltige Flüssigkeiten erhalten, welche gleichfalls Selbstverdauung zeigten, wenn auch in viel geringerem Maasse als der Presssaft aus Hefezellen.» In einer weiteren Veröffentlichung wurden einfach die analytischen Daten über die Selbstverdauung des Tuberculoplasmins publicirt. Herr Kutscher behandelt Tuberkelbacillen, über deren Alter nichts gesagt wird — der Ausdruck «frisch» lässt der Phantasie grossen Spielraum —. 11 Tage lang bei 37—38° mit Chloroformwasser und sagt dann Folgendes: «War nun in Wirklichkeit, wie die Arbeiten von Hahn vermuthen liessen, ein stärkeres proteolytisches Enzym in den Tuberkelbacillen enthalten, so mussten sich unter der Einwirkung desselben die Eiweisskörper, welche sich in der Leibessubstanz der Tuberkelbacillen befinden, lösen und ihre Abbauprodukte in die Verdauungsflüssigkeit diffundiren. Herr Kutscher findet denn auch, dass von dem Eiweiss, welches die Tuberkelbacillen enthalten, circa 10% durch die Digestion in Lösung gehen, er findet geringe Mengen von Alloxurbasen und eine dem Leucin ähnliche krystallisirende Substanz. Aber es gelang Herrn Kutscher leider nicht, andere Spaltungsprodukte des Eiweiss aufzufinden, und man kann sich des Eindrucks nicht erwehren, dass das hier er-

1) Sitzungsberichte d. Gesellsch. z. Beförderung der gesammten Naturwissenschaften. Marburg 1901. Nr. 6.

folglose Fahnden nach Hexonbasen und Amidosäuren Herrn Kutscher zu dem sicher falschen Urtheil verleitet hat, dass in den Tuberkelbacillen weder schwächere, noch stärkere proteolytische Enzyme vorhanden seien. Woher soll denn die Zunahme des im Chloroformwasser gelösten Stickstoffanteils schliesslich kommen? Unsere Analysen des Presssaftes aus Tuberkelbacillen zeigen ganz klar und einwandfrei, dass sich das Coagulat durch mehrwöchentliche Digestion in demselben erheblich vermindert (bis 50%), dass der Filtratstickstoff zunimmt. Von einem stärkeren Enzym haben wir trotzdem nie gesprochen und höchstens unsere Analysen, nicht unsere Erörterungen können Kutscher zu der seiner Ansicht nach erfolglosen Untersuchung verleitet haben, die uns übrigens eine werthvolle Bestätigung unserer Befunde gebracht hat und nur wieder beweist, dass für den Nachweis eines Enzyms die Suspensionen von Zellen in Flüssigkeiten viel weniger geeignet sind, als die zellfreien Plasmine. Bei den in Suspension befindlichen Tuberkelbacillen dürfte die wachsartige Hülle in hohem Grade für die Diffusion der Spaltungsprodukte, die sich im Innern der Bacterien durch Enzymwirkung gebildet haben, hinderlich sein. Zweifellos würde es auch bei Verarbeitung grösserer Mengen von selbstverdautem Tuberculoplasmin möglich sein, die Spaltungsprodukte nachzuweisen, aber 100 g Tuberkelbacillen sind dazu ganz unzureichend. Sind erst die Spaltungsprodukte gefunden, namentlich die basischen, dann wird auch wohl Kutscher zugeben, dass ein Enzym vorhanden ist und ob es als stärker oder schwächer zu bezeichnen ist, das wird vom Alter der Kulturen etc. abhängen, und darüber wollen wir mit Niemand streiten, um so weniger, als wir nie von einem stärkeren Enzym gesprochen haben.

Kutscher's Arbeiten haben wirklich etwas Neues gebracht. Gerade aber deshalb hätte er es auch garnicht nöthig gehabt, die Fortschritte, die in den früher erschienenen Arbeiten anderer Autoren enthalten sind, zu negiren.