

Ueber die Elektrolyse der Salze des Nucleohistons und Histons.

Von

W. Huiskamp.

Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.

(Der Redaction zugegangen am 28. September 1901.)

In einem Aufsatz: Ueber die Eiweisskörper der Thymusdrüse¹⁾ habe ich zu zeigen versucht, dass das im wässerigen Thymusextracte vorhandene Nucleohiston als ein Salz, und zwar als Alkalisalz zu betrachten ist. Es wurde nachgewiesen, dass das Calciumsalz des Nucleohistons durch Säuren, z. B. durch Essigsäure zerlegt wird, und dass das dadurch entstandene freie Nucleohiston eine Säure darstellt. Weiterhin ergab sich, dass die Alkalisalze des Nucleohistons durch Zusatz von Chlorcalcium in das Calciumsalz umgewandelt werden: dieses Calciumsalz konnte nun nicht nur durch Essigsäure, sondern auch durch Kaliumoxalat zerlegt werden.

Wegen der Leichtigkeit, mit welcher die genannten Reactionen vor sich gehen, war es naheliegend, sich die Frage zu stellen, ob die Salze des Nucleohistons, zumal die Alkalisalze in ihren wässerigen Lösungen, elektrolytisch dissociirt seien.

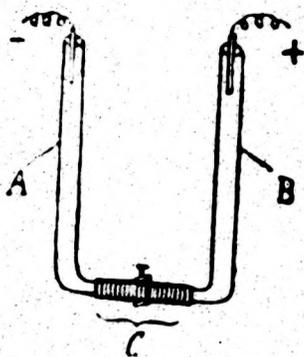
Bekanntlich erleiden die negativen Bestandtheile der organischen Säuren und Salze, namentlich derjenigen der Fettsäurereihe, beim Durchleiten eines elektrischen Stromes an der positiven Elektrode vielfach secundäre Zersetzungen. Andererseits sind aber auch mehrere organische Säuren und Salze bekannt, so z. B. aus der aromatischen Reihe die freien Säuren und die Salze der Benzoesäure, Phtalsäure, Phenyllessigsäure, Zimmtsäure u. A., deren negative Bestandtheile nicht secundär

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 145.

zersetzt werden: es tritt hier vielmehr ein glatter Zerfall in Wasserstoff resp. Metall und Säurerest ein, welcher letzterer dann die Säure wieder regeneriert. Zunächst war nun zu prüfen, ob beim Durchleiten eines Stromes durch die wässrige Lösung eines Nucleohistonsalzes das Nucleohiston als negatives Ion der Anode zugeführt wird: sodann war zu untersuchen, ob das dort angelangte Nucleohiston irgend welche Zersetzungen erlitten hatte.

Die diesbezüglichen Versuche wurden mit Lösungen von Natriumnucleohiston ausgeführt, deren Herstellung die folgende war:

Das mittels Centrifugirens von Formelementen getrennte Thymusextract wurde mit 0,1% igem Chlorcalcium gefällt; der Niederschlag wurde in Wasser unter Zusatz von ein wenig verdünntem Ammoniak gelöst; diese Lösung wurde nochmals mit CaCl_2 gefällt und das gebildete Calciumnucleohiston mittels Auswaschen mit 0,2—0,3% iger Essigsäure zerlegt. Die Essigsäure wurde sodann durch wiederholtes Auswaschen mit destilliertem Wasser entfernt. Das freie Nucleohiston wurde nun in Wasser suspendirt und durch Zusatz von verdünnter Natronlauge bis zur neutralen Reaction gelöst. Die Concentration dieser Lösungen betrug $\frac{1}{2}$ —1%.



Zum Zwecke der Elektrolyse wurde nun die Lösung des Natriumnucleohistons in ein U-Rohr gebracht, dessen Einrichtung die folgende war (siehe die Figur):

Zwei gläserne Röhren *A* und *B* sind rechteckig umgebogen; die Enden der horizontalen Theile dieser Röhren sind durch ein Kautschukrohr *C* mit einander verbunden, welches in der Mitte mittels einer Schraubenklemme zusammengepresst und völlig geschlossen werden kann. Der Inhalt des ganzen U-Rohres war 175 ccm. Als Elektroden dienten Platinstreifen, deren Länge und Breite resp. 5 und $\frac{1}{2}$ cm., waren.

Beim Durchleiten des elektrischen Stromes liess sich an beiden Elektroden eine sehr geringe Gasentwicklung wahr-

nehmen und es setzte sich auf die Anode langsam ein Niederschlag ab, während die Flüssigkeit in der Nähe der Kathode ein wenig alkalisch wurde. (Die Stromstärke war bei einer Spannung von + 50 Volt in verschiedenen Versuchen $\frac{1}{8}$ bis $\frac{1}{4}$ Milliampère.) Wurde die Elektrolyse genügend lange, z. B. 3—4 Mal 24 Stunden fortgesetzt, so gelang es, alles Nucleohiston bis auf geringe Spuren aus dem negativen Theile der Röhre nach der Anode überzuführen, wobei die Flüssigkeit in der unmittelbaren Nähe der Kathode am frühesten eiweissfrei wurde.

Diese Befunde stimmen überein mit der Annahme, dass das Nucleohiston als Ion in der Lösung vorhanden ist; während der Elektrolyse wandert dasselbe nach der Anode und regeneriert dort das Säuremolekel, welches aber, weil unlöslich in Wasser, an der Anode ausgeschieden wird.

Es handelte sich nun weiterhin darum, zu entscheiden, ob die ausgeschiedene Substanz aus unverändertem Nucleohiston bestand und zwar, wie es die Voraussetzung fordert, nicht aus dem Natriumsalze, sondern aus der freien Säure.

Zu diesem Zwecke wurde, nachdem der Strom unterbrochen war, das Kautschukrohr mittels der Klemme geschlossen. Der Anodenniederschlag haftet ziemlich fest an der Elektrode und kann mit dieser herausgenommen werden: falls sich dabei einzelne Partikel ablösen, können dieselben von der Flüssigkeit aus dem positiven Theil des U-Rohres abcentrifugirt werden.

Es stellte sich heraus, dass sich der Niederschlag, nachdem derselbe in Wasser suspendirt worden war, durch Zusatz von Natronlauge zu einer neutralen Flüssigkeit löste. Diese Lösung konnte durch Essigsäure gefällt werden und der Niederschlag löste sich nicht im Ueberschuss; ebenso bekommt man mit CaCl_2 eine Fällung, welche aber im Ueberschuss löslich ist. Aus dem durch Essigsäure oder Chlorecalcium erhaltenen Niederschlag kann mittels 0,8%igen HCl Histon bereitet werden. Die während der Elektrolyse an der Anode ausgeschiedene Substanz gibt also die qualitativen Reactionen des Nucleohistons.

In Bezug auf den Phosphor- und Stickstoffgehalt erhielt ich folgende Resultate:

Phosphorbestimmung (nach der von Neumann angegebenen Methode). 0,4102 g der mit Alkohol und mit Aether gewaschenen, sodann bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz gaben 0,0549 g $Mg_2P_2O_7$.

Der Phosphorgehalt war somit $3,74\%$, während nach meinen früheren Bestimmungen¹⁾ das Calciumnucleohiston im Mittel $3,75\%$ P enthielt.

Stickstoffbestimmung (nach Kjeldahl). 0,4342 g der wie oben behandelten Substanz verbrauchten zur Neutralisation des Ammoniaks 21,35 ccm. $\frac{1}{4}$ n- H_2SO_4 .

Der Stickstoffgehalt war also $17,21\%$. Den Stickstoffgehalt des Calciumnucleohistons habe ich früher zu $17,08\%$ gefunden.²⁾

Obwohl nach dem Vorhergehenden die Identität des Anodenniederschlags mit Nucleohiston genügend feststeht, so bringt die folgende Beobachtung hierfür noch eine Bestätigung.

Wie ich früher³⁾ dargethan habe, vermag das Calciumnucleohiston, zumal bei der Anwesenheit von $0,1\%$ igem Chlorcalcium, eine Fibrinogenlösung zur Gerinnung zu bringen. Dasselbe erreicht man nun, wenn die an der Anode ausgeschiedene Substanz als Ferment benutzt wird; ich habe dazu dieselbe durch Zusatz von Ammoniak bis zur neutralen Reaction gelöst. 2 ccm. dieser Lösung wurden mit 6 ccm. einer nach Hammarsten bereiteten und mit Chlorcalcium an und für sich nicht gerinnenden Fibrinogenlösung gemischt. Sodann wurde ein Tropfen 10% iges Chlorcalcium zugesetzt. Nach drei Viertelstunden trat die Gerinnung ein. Einige weitere derartige Versuche gaben dasselbe Resultat. Dagegen trat keine Gerinnung auf in einem Gemisch von 6 ccm. Fibrinogen und 2 ccm. der Lösung des elektrolysirten Nucleohistons, aber ohne Zusatz von $CaCl_2$.

Aus dem Vorhergehenden ergibt sich also, dass das

¹⁾ l. c. S. 177.

²⁾ l. c. S. 176.

³⁾ l. c. S. 189.

Nucleohiston durch die Elektrolyse keine merkbaren Zersetzungen erleidet, welcher Umstand theilweise seine Erklärung darin finden möge, dass das Produkt der Elektrolyse nicht in Lösung bleibt, sondern an der Anode ausgeschieden wird, wodurch dasselbe einer eventuellen Oxydation oder anderen secundären Vorgängen weniger ausgesetzt ist.

Wie es oben angegeben worden ist, lässt sich das an der Anode ausgeschiedene Nucleohiston durch Zusatz von Natronlauge zu einer neutralen Flüssigkeit lösen. Aus diesem Befunde darf man schon schliessen, dass die ausgeschiedene Substanz nicht das Natriumsalz des Nucleohistons, sondern die freie Säure darstellt. Eine Bestimmung des Aschengehaltes bestätigte diese Auffassung. Es stellte sich nämlich heraus, dass der Aschengehalt dieser Substanz ungefähr mit demjenigen auf andere Weise bereiteten freien Nucleohistons übereinstimmte, während dieser Gehalt weit niedriger als der Aschengehalt des Ausgangsmaterials der Elektrolyse, des Natriumnucleohistons, war.

Es folgen hier die bezüglichlichen Daten.

a) Aschenbestimmung des durch Elektrolyse erhaltenen Nucleohistons.

0,5029 g der mit Alkohol und mit Aether gewaschenen und bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz lieferten nach Veraschung im Porzellantiegel 0,0144 g Asche; der Aschengehalt war somit 2,86%.

b) Aschenbestimmung des durch Essigsäure bereiteten freien Nucleohistons.

Dasselbe wurde durch Zerlegung des Calciumnucleohistons mit 5%iger Essigsäure dargestellt. Das gebildete freie Nucleohiston wurde mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen, sodann bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,4485 g dieser Substanz gaben nach Veraschung im Porzellantiegel 0,0112 g Asche; der Aschengehalt betrug also 2,50%. Durch Auskochen mit Salzsäure konnte aus dieser Asche kein Calcium mehr erhalten werden.

c) Aschenbestimmung des Natriumnucleohistons. Hierzu

wurde eine Lösung des Natriumnucleohistons bereitet: aus der schon oben beschriebenen Darstellungsweise erhellt, dass in einer solchen Lösung freie Aschenbestandtheile nur spurensweise vorhanden sein können. Die Lösung wurde nun durch Zusatz eines Gemisches von einem Volumtheile Aether und drei Volumtheilen Aceton gefällt. (Es zeigte sich nämlich ein Gemisch von Aceton und Aether zur Fällung besser geeignet, als ein solches von Alkohol und Aether.) Der Niederschlag wurde sodann mit Alkohol gewaschen, unter Aether gebracht und getrocknet.

0,5444 g der bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz lieferten nach Veraschung im Porzellan- tiegel 0,0397 g Asche. Der Aschengehalt war somit 7,29%, also weit höher als in den Fällen a) und b).

Dass bei der Bestimmung a) ein etwas höherer Aschengehalt gefunden wurde als im Falle b), dürfte folgender Ursache zuzuschreiben sein. Bei der näheren Untersuchung der Asche des durch Elektrolyse bereiteten Nucleohistons stellte es sich heraus, dass dieselbe ein wenig Calcium enthält. Desgleichen konnte im mit 0,3%iger Essigsäure ausgewaschenen Calciumnucleohiston Calcium noch in geringer Menge nachgewiesen werden, während, wie gesagt, bei der Bestimmung b) alles Calcium entfernt worden war. Die zur Elektrolyse verwendeten Lösungen stellten daher keine völlig reine Natriumnucleohistonlösungen dar, sondern das Natrium war, sei es auch nur zu einem geringen Theile, durch Calcium vertreten. Es ist nun sehr wohl möglich, dass ein Theil der Nucleohiston-Ionen ein wenig Calcium im undissociirten Zustande nach der Anode mitgeführt hat.

Der gefundene Aschengehalt des Natriumnucleohistons gibt einen Anhaltspunkt für die Beurtheilung einer eventuellen hydrolytischen Dissociation der Lösung dieses Salzes. Nach einer früher von mir ausgeführten Bestimmung des Aschengehaltes des mittels CaCl_2 aus schwach ammoniakalischer Lösung gefällten Calciumnucleohistons liefert dieses 7,008% Asche.¹⁾

Weil nun die Asche des Natrium-Nucleohistons und diejenige des Calciumnucleohistons im Wesentlichen wohl aus Salzen derselben Säuren bestehen, so war es wohl von vornherein wahrscheinlich, dass der Aschengehalt des Natriumnucleohistons mindestens so gross wie derjenige des Calciumnucleohistons sein würde. Nur wenn die Lösung des Natriumnucleohistons beträchtlich hydrolytisch dissociirt war, liess sich, der oben angewendeten Darstellungsweise zufolge, ein geringerer Aschengehalt erwarten; denn in diesem Falle würde durch das Gemisch von Aceton und Aether eine Substanz mit einem erheblich kleineren Natriumgehalte gefällt worden sein, während ein wenig Natronlauge in Lösung hätte bleiben müssen, weil, wie ich mich besonders überzeugt habe, Natronlauge in der betreffenden, aus Wasser, Aceton und Aether bestehenden Flüssigkeit ziemlich gut löslich war. Nachdem nun der Aschengehalt des Natriumnucleohistons thatsächlich etwas höher gefunden wurde als derjenige des Calciumnucleohistons, muss angenommen werden, dass das Natriumnucleohiston in seiner Lösung relativ wenig hydrolytisch dissociirt ist.

Die bisher erhaltenen Resultate stimmen mit der Annahme, dass das Natriumnucleohiston in seiner Lösung ionisirt ist, völlig überein. Die beobachteten Thatsachen lassen jedoch auch noch eine andere, wenn auch weniger wahrscheinliche Erklärung zu:

Die zur Elektrolyse verwendeten Lösungen enthielten wegen des wiederholten Auswaschens mit destillirtem Wasser während der Bereitung ohne Zweifel nur noch Spuren von Mineral- oder anderen Salzen. Es war aber wohl nicht möglich, diese dadurch ganz vollständig zu entfernen. Wenn nun neben dem Natriumnucleohiston noch eine geringe Menge Salz in der Lösung vorhanden ist, wird letzteres während der Elektrolyse gespalten und es bildet sich dadurch an der Anode ein wenig Säure. Diese Säure vermag ein wenig Natriumnucleohiston zu zerlegen, wodurch freies Nucleohiston ausfällt. Die Säuremolekeln verwandeln sich dadurch in ihr Natriumsalz, woraus wieder Säure entsteht.

welche eine weitere Menge Natriumnucleohiston zu zerlegen im Stande ist u. s. w. Die Concentration des Natriumnucleohistons wird dadurch an der Anode allmählich verringert: durch Diffusion aus den übrigen Theilen der Röhre kann aber immer neues Natriumnucleohiston zugeführt werden; bis schliesslich alles Nucleohiston an der Anode gefällt worden ist.

Eine einzige Beobachtung ist mit der hier gegebenen Darstellung im Widerspruch, diejenige nämlich, dass das Nucleohiston während der Elektrolyse zuerst aus der Flüssigkeit in der Nähe der Kathode verschwindet: denn wäre es richtig, dass das Nucleohiston nur der Zerlegung durch Säure wegen an der Anode ausgeschieden wurde, so müsste erwartet werden, dass an der Anode die Concentration des Natriumnucleohistons am geringsten sein würde, während dieselbe in der Richtung der Kathode gerade etwas steigen würde. Wenn dagegen das Nucleohiston als Ion der Anode zugeführt wird, muss umgekehrt die Concentration in der Richtung der Anode zunehmen. Mittels des bei der Elektrolyse benutzten Apparates war es nun sehr einfach, endgültig zu entscheiden, ob während der Elektrolyse die Concentration in der Richtung der Anode oder aber in der Richtung der Kathode zunahm.

Es wurde hierzu eine Lösung von Natriumnucleohiston während 17 Stunden elektrolysiert. Sodann wurde der Strom unterbrochen und das Kautschukrohr mittels der Klemme geschlossen. Die Flüssigkeit in der Nähe der Kathode wurde darauf vorsichtig ungefähr bis zur Mitte der Röhre *A* abgehert. Diese Flüssigkeit wird im Folgenden als Flüssigkeit I bezeichnet werden.) Sodann wurde die im unteren Theile der Röhre *A* befindliche Flüssigkeit abgehert und für sich gesondert aufgefangen (Flüssigkeit II). Durch theilweises Eröffnen der Klemme wurde darauf die im unteren Theile der Röhre *B* befindliche Flüssigkeit in die Röhre *A* übergeführt; nach Schliessung der Klemme wurde auch diese Flüssigkeitsportion abgehert (Flüssigkeit III). Die drei Flüssigkeiten wurden nun jede für sich durch aschenfreies Filter filtrirt; von jedem Filtrate wurde 34 cem. genommen: zur Bestimmung des Trockenrückstandes wurden die einzelnen Portionen in

vorher gewogenen Gefässen bis zur Trockne abgedampft, sodann bei 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet.

Das Ergebniss war folgendes:

Flüssigkeit I enthielt 0,0599 g Substanz.

II 0,1567 g

III 0,1781 g

Diese Zahlen zeigen deutlich, dass während der Elektrolyse die Concentration in der Richtung der Anode zunimmt. Das Nucleohiston wandert somit als Ion der Anode zu. Ob neben dieser Wanderung an der Anode noch ein wenig Nucleohiston durch Säure ausgefällt wird, bleibt dann dahingestellt.

Das Thymushiston gehört zu den basischen Eiweisskörpern: es vermag mit Säuren salzartige Verbindungen einzugehen. Sollte z. B. die Verbindung mit Salzsäure in wässriger Lösung elektrolytisch dissociirt sein, so liess sich erwarten, dass dieselbe mit Silbernitrat reagiren würde unter Bildung von Chlorsilber. Bei der näheren Prüfung dieser Annahme stösst man aber auf eine besondere Schwierigkeit. Es stellt sich nämlich heraus, dass das Histon, ebenso wie einige andere organische Substanzen, ein Zustandekommen der Chlorreaction zu verhindern vermag; es ist möglich, einer Lösung des salzsauren Histons selbst ziemlich viel überschüssige Salzsäure zuzusetzen, ohne dass nach Zusatz von AgNO_3 ein Niederschlag sich bildet. Höchstens entsteht eine Opalescenz. So gibt z. B. eine Histonlösung in 0,8%iger Salzsäure mit 2%igem Silbernitrat keinen Niederschlag. Ich habe daher eine Lösung des Histonsulfats bereitet und es zeigte sich, dass dieselbe mit BaCl_2 einen Niederschlag von Baryumsulfat gab. Die Darstellung des Histonsulfats, sowie das Verhalten der Histonsalze bei der Dialyse erfordern eine genauere Beschreibung.

Es wurde hierzu Calciumnucleohiston mit 0,4%iger HCl extrahirt; die Histonlösung wurde sodann abfiltrirt und gegen strömendes Wasser dialysirt. Wenn eine solche Lösung 24 Stunden dialysirt worden ist, zeigt dieselbe gegen Lackmus deutlich alkalische Reaction: diese Reaction wird am besten beim Gebrauch von Lackmustinctur sichtbar, kann aber auch

mit empfindlichem Lackmuspapier nachgewiesen werden. Gegen Phenolphthalein, welches bekanntlich gegen Alkali weniger empfindlich ist als Lackmus, reagiert die Lösung nicht alkalisch. Wird jetzt die Dialyse fortgesetzt, so gelingt es nicht, die Reaction gegen Phenolphthalein alkalisch zu machen, während die alkalische Reaction gegen Lackmus über eine gewisse Grenze nicht merkbar mehr zunimmt. Das Histon bleibt während der Dialyse vollkommen gelöst. Die dialysirte Lösung des salzsauren Histons wurde nunmehr mit Natronlauge gefällt; der Niederschlag wurde abcentrifugirt und durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure, bis die Reaction ziemlich stark sauer geworden war, gelöst. Eine solche Lösung verhält sich während der Dialyse ebenso wie das salzsaure Histon. Die Lösung des Histonsulfats wurde daher dialysirt, bis die Reaction gegen Lackmus alkalisch geworden war und die Alkalescenz bei der weiteren Dialyse nicht mehr zunahm. Alle freie Säure war alsdann entfernt. Diese Lösung gab mit BaCl_2 sofort einen sehr deutlichen Niederschlag von BaSO_4 . Es muss hinzugefügt werden, dass das zum Behuf der Dialyse benutzte Leitungswasser mit BaCl_2 keine Spur eines Niederschlags zeigt.

Aus dem Vorhergehenden erhellt also, dass in einer Lösung von Histonsulfat die SO_4 -Gruppe als Ion vorhanden ist, dass somit die Histonsalze in ihren Lösungen ionisirt sind, und auch nur in diesem Falle wird es verständlich, dass, wie es im obigen Versuch geschah, das salzsaure Histon durch Fällung mit Natronlauge und Lösung mittels Schwefelsäure in das Histonsulfat übergeführt werden kann.

Bei der Fällung mit NaOH wird alles Chlor unter Bildung von NaCl nebst freiem Histon abgespalten, welches letzteres wegen seiner geringen Löslichkeit ausfällt.

Dass die Lösungen der Histonsalze nach genügend langer fortgesetzter Dialyse gegen Lackmus alkalisch reagieren, muss wohl einer hydrolytischen Dissociation zugeschrieben werden; es bilden sich z. B. im Falle salzsauren Histons Salzsäuremolekeln, welche durch das Pergamentpapier diffundiren, während basische Histonmolekeln zurückbleiben. Setzt man der gegen Lackmus alkalisch reagirenden Lösung soviel Salz-

säure zu, bis die Reaction gegen Lackmus neutral geworden ist, so kann noch ein wenig Salzsäure hinzugefügt werden, bevor Methylorange saure Reaction anzeigt.

Die hydrolytische Dissociation geht, wie sich aus dem Vorhergehenden ableiten lässt, nicht so weit, dass die Säurereste durch die Dialyse unter Bildung von freiem Histon vollständig entfernt werden: ein Theil derselben bleibt zurück und ermöglicht es, dass die Histonsalze auch nach lange fortgesetzter Dialyse gelöst bleiben. Nur ein stärker wirkendes Agens, als im Wasser gegeben ist, z. B. eine Lösung von NaOH, vermag auch die letzten Säurereste abzuspalten und dadurch freies Histon auszufällen. Dennoch kann man auch mit Wasser mehr weniger dasselbe erreichen, wenn man nämlich die Lösung des Histonsalzes erhitzt: kocht man in einem Reagenröhrchen ein wenig einer dialysirten Lösung des salzsauren Histons unter Zusatz von einem Tropfen Phenolphthalein, so wird die Lösung bald roth gefärbt: die Lösung ist also stärker alkalisch geworden, als es sich durch die Dialyse für sich allein erreichen lässt: das Wasser hat Salzsäure abgespalten und es ist dies beim Kochen ausgetrieben worden: ganz ähnlich verhalten sich im Uebrigen bekanntlich die gewöhnlichen Salze, z. B. NaCl. Das freie Histon scheint also auch gegen Phenolphthalein alkalisch zu reagiren. Folgender Versuch bestätigt diese Annahme. Eine Lösung von salzsaurem Histon wurde mittels Ammoniak gefällt; das Ammoniak wurde durch wiederholtes Auswaschen mit grossen Mengen von Alkohol entfernt, sodass angenommen werden konnte, dass jedenfalls keine mit Phenolphthalein deutlich reagirende Menge von Ammoniak zurückgeblieben war. Der Niederschlag wurde sodann in Wasser suspendirt: das freie Histon ist in Wasser ein wenig löslich und beim Zusatz von einem Tropfen Phenolphthalein färbt sich die Lösung sofort stark roth.

Schliesslich möchte ich auf die Aehnlichkeit der hier erhaltenen Resultate mit einigen der Ergebnisse, wozu Osborne¹ speciell in Bezug auf das Edestin gelangt ist, hinweisen.

¹Die Ergebnisse der Elektrolyse des salzsauren Histons

¹ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 225 u. 240.

stehen mit dem bisher Gefundenen im Einklang. Nachdem festgestellt ist, dass in den Histonsalzen das Histon den basischen Theil des Molekels darstellt, lässt sich erwarten, dass dasselbe bei der Elektrolyse nach der Kathode hingeführt werden wird: weil aber das freie Histon in Wasser wenig löslich ist, so muss dies dort, wenn es in genügender Concentration vorhanden ist, ausgeschieden werden. Die Elektrolyse wird daher mehr weniger einer solchen von einigen Alkaloiden, z. B. von Strychninsulfat, ähnlich verlaufen: es wird hierbei auch strychnin an der Kathode ausgeschieden.

Die Bereitung des salzsauren Histons, mit welchem die Versuche ausgeführt wurden, war die folgende:

Zweimal mittels CaCl_2 gefälltes Nucleohiston wurde während 16 bis 18 Stunden mit 0,4% iger Salzsäure extrahirt: sodann wurde die Lösung des HCl-Histons abfiltrirt und gegenströmendes Leitungswasser dialysirt, bis die Reaction gegen Lackmus alkalisch geworden war: darauf wurde dieselbe zur Entfernung schwebender Nucleintheilchen, welche das Filter vielleicht nicht zurückgehalten hatte, centrifugirt. (Es lassen sich diese Theilchen leichter nach der Dialyse als vorher abcentrifugiren.) Die fast wasserhelle Flüssigkeit wurde während 24 bis 48 Stunden gegen destillirtes Wasser dialysirt. Die darauf in der Lösung noch vorhandene Menge von Salzen kann nur äusserst gering sein, zumal weil schon das hiesige Leitungswasser sehr salzarm ist.

Die Lösung wurde in dem beim Nucleohiston benutzten U-Rohr elektrolysirt. Das Histon wird während der Elektrolyse an der Kathode ausgeschieden, während die Reaction an der Anode sauer wird. Der Niederschlag haftet aber nicht so fest an der Elektrode als das Nucleohiston.

Das ausgeschiedene Histon lässt sich mittels Salzsäure zu einer gegen Lackmus neutralen Flüssigkeit lösen: die Lösung gibt die Reactionen des unveränderten HCl-Histons: Zusatz von Ammoniak, Ammonpikrat oder Salpetersäure verursacht einen Niederschlag. Der salpetersaure Niederschlag löst sich beim Erhitzen. Hühnereiweiss und Serumglobulin werden durch die Lösung gefällt.

Der Stickstoffgehalt des elektrolytischen Histons zeigt sich, wenn die Elektrolyse nicht allzu lange gedauert hat, fast unverändert.

Eine nach Kjeldahl in einem nach 16stündiger Elektrolyse erhaltenen Präparate ausgeführte N-Bestimmung gab als Resultat 17,98% N.

0,2851 g der mit Alkohol und Aether gewaschenen und bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz verbrauchten zur Neutralisation des gebildeten Ammoniaks 14,65 ccm. $\frac{1}{4}$ n-H₂SO₄.

Zum Vergleich wurden N-Bestimmungen von mittels Alkali gefälltem Histon ausgeführt.

a) Calciumnucleohiston wurde mit 0,4%iger Salzsäure extrahiert; die HCl-Histonlösung wurde abfiltrirt und dialysirt; sodann wurde wieder filtrirt und das Histon mittels NaOH gefällt.

0,3377 g der mit Alkohol und mit Aether gewaschenen und bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz verbrauchten zur Neutralisation des gebildeten Ammoniaks 17,50 ccm. $\frac{1}{4}$ n-H₂SO₄. N-Gehalt = 18,14%.

b) Auf dieselbe Weise bereitetes Histon, nur dass Ammoniak statt Natronlauge zur Fällung benutzt wurde. Das Ammoniak wurde durch Auswaschen mit Alkohol und mit Aether entfernt.

0,2949 g der bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz verbrauchten zur Neutralisation des gebildeten Ammoniaks 15,25 ccm. $\frac{1}{4}$ n-H₂SO₄. N-Gehalt = 18,10%.

c) Calciumnucleohiston wurde mit 0,8%iger HCl extrahiert; die HCl-Histonlösung wurde abfiltrirt, dialysirt und mittels NaOH gefällt; der Niederschlag wurde durch überschüssige Salzsäure gelöst, die Lösung dialysirt und nochmals mit NaOH gefällt.

0,2728 g der mit Alkohol und mit Aether gewaschenen und bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz verbrauchten zur Neutralisation des gebildeten Ammoniaks 14,05 ccm. $\frac{1}{4}$ n-H₂SO₄. N-Gehalt = 18,03%.

Der N-Gehalt des mittels Alkali gefällten Histons war also im Mittel 18,09%. Diese Zahl ist ein wenig niedriger

als diejenige, welche von Bang¹⁾ für das Thymushiston gefunden wurde, nämlich 18,35% auf aschenfreie Substanz berechnet. Die von mir benutzten Präparate enthielten keine genau wägbaren Mengen von Asche.

Während der Stickstoffgehalt des elektrolysierten Histons und derjenige des mittels Alkali gefällten Histons ungefähr übereinstimmen, wenn, wie im obigen Falle, die Elektrolyse nur 16 Stunden gedauert hat, so zeigt sich der N-Gehalt nicht unbedeutend erniedrigt, falls der Strom während längerer Zeit durchgeleitet wird. Die Stickstoffbestimmung eines Präparates, welches nach dreitägiger Elektrolyse erhalten worden war, ergab 17,64% N. Eine zweite Bestimmung desselben Präparates ergab 17,63% N.

Falls das Histon als Ion der Kathode zuwandert, lässt sich erwarten, dass das dort ausgeschiedene Histon kein Chlor mehr enthält. Die Menge Salzsäure, welche dieses Histon zur Lösung braucht, soll also mit derjenigen, welche das mittels Ammoniak gefällte Histon dazu braucht, übereinstimmen.

Zur Entscheidung dieser Frage wurde das an der Kathode ausgeschiedene Histon in 80 ccm. destillirtem Wasser suspendirt; sodann wurde $\frac{1}{10}$ n-HCl zugesetzt; als Indicator, um den Eintritt der sauren Reaction zu zeigen, diente Methylorange. In dem Maasse, als Salzsäure zugesetzt wurde, löste sich der Niederschlag. Nach Zusatz von 3,9 ccm. $\frac{1}{10}$ n-HCl war alles Histon gelöst und trat die Endreaction ein; der Trockenrückstand dieser Lösung wurde bestimmt; das Gewicht desselben betrug 0,2302 g. Auf 100 mg HCl-Histon war also 6,01 mg Chlor zugesetzt worden. Zum Vergleich wurde eine auf dieselbe Weise als die zur Elektrolyse verwendeten Lösungen bereite HCl-Histonlösung mit Ammoniak gefällt; der Niederschlag, wurde mit Alkohol gewaschen, bis angenommen werden durfte, dass alles Ammoniak entfernt war; sodann wurde das Histon in 80 ccm. destillirtem Wasser suspendirt. Nach Zusatz von 6,15 ccm. $\frac{1}{10}$ n-HCl war der ganze Niederschlag gelöst und wurde die Endreaction sichtbar. (Als Indicator

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXVII. S. 463.

diente wieder Methylorange. Das Gewicht des Trockenrückstandes dieser Lösung betrug 0.3790 g. Es wurde hier als auf 100 mg HCl-Histon 5.76 mg Chlor zugesetzt. Man findet somit eine annähernde Uebereinstimmung mit der vorigen Bestimmung.

Obwohl die zur Elektrolyse verwendeten HCl-Histonlösungen gegen destillirtes Wasser dialysirt waren, so darf angenommen werden, dass dieselben dennoch eine geringe Menge Salz enthielten. Man könnte nun, statt eine Ionwanderung des Histons anzunehmen, vermuthen, dass das aus dieser Salzmenge an der Kathode gebildete Alkali allmählich das Histon fälle und dass durch Diffusion immer wieder HCl-Histon der Kathode zuwandere. Diese Annahme ist der früher beim Nucleohiston gemachten ähnlich und liess sich auch auf ganz ähnliche Weise widerlegen.

Gerade so wie dort wurden nach 17 stündiger Elektrolyse einer gegen Lackmus alkalischen HCl-Histonlösung drei Flüssigkeitsportionen abgehoben, nur dass in diesem Falle bei der Anode statt der Kathode angefangen wurde. Von jeder Flüssigkeitsportion wurden 34 ccm. abfiltrirt und der Trockenrückstand der Filtrate bestimmt.

Flüssigkeit I enthielt 0,0851 g Substanz.

II 0,1449

III 0,1553

Ein zweiter auf dieselbe Weise mit gegen Lackmus neutralem HCl-Histon ausgeführter Versuch lieferte folgendes Resultat:

Flüssigkeit I enthielt 0,1115 g Substanz.

II 0,1366

III 0,1581

Diese Zahlen zeigen, dass während der Elektrolyse die Concentration in der Richtung der Kathode zunimmt, dass somit das Histon durch die Kathode angezogen, resp. von der Anode abgestossen wird.

Es gelingt auch nach mehrtägiger Elektrolyse nicht, alle Histon nach der Kathode überzuführen. Die Erklärung dafür muss wahrscheinlich darin gesucht werden, dass das an der Kathode ausgeschiedene Histon in Wasser nicht vollkommen

unlöslich ist. Ein Theil bleibt daher gelöst und kann sich durch Diffusion in der Röhre verbreiten.

Aus Versuchen von Hardy¹⁾ hat sich ergeben, dass bei der Elektrolyse von gekochtem Hühnereiweiss in einer sauren Flüssigkeit das Eiweiss sich an der Kathode ansammelte, während dasselbe bei alkalischer Reaction nach der Anode geführt wird. War die Reaction neutral, so bewirkte der Strom keine Wanderung in der einen oder der anderen Richtung.

Bei der Vergleichung dieser Versuche mit den hier mitgetheilten Befunden fällt sofort ein Unterschied auf. Das Nucleohiston wird auch bei neutraler Reaction nach der Anode geführt. Auch wenn die Lösung des Natriumnucleohistons durch Zusatz von NaOH ein wenig alkalisch gemacht worden ist, setzt sich das Nucleohiston, wie sich nachweisen lässt, an der Anode ab und zwar während die Flüssigkeit dort noch alkalisch reagirt. Es ist möglich, sich eine schwach sauer reagirende Lösung von Natriumnucleohiston herzustellen: man setzt dazu dem in Wasser suspendirten freien Nucleohiston NaOH zu, aber in einer zur vollkommenen Neutralisation nicht genügenden Menge. Das Nucleohiston löst sich und die Lösung reagirt sauer; wahrscheinlich ist ein saures Salz des Nucleohistons vorhanden. Auch bei der Elektrolyse einer solchen Lösung wird das Nucleohiston an der Anode ausgeschieden. Dass das Histon bei gegen Lackmus alkalischer oder neutraler Reaction der Kathode zuwandert, ist schon erwähnt. Auch wenn die Lösung des salzsauren Histons durch überschüssige Salzsäure sauer reagirt, wird das Histon, wie sich nachweisen lässt, nach der Kathode geführt; die Ausscheidung findet bei saurer Reaction rascher statt, als bei neutraler oder alkalischer Reaction und fängt schon an, während die Reaction in der Nähe der Kathode noch sauer ist.

Dass Hardy andere Resultate erhalten hat, muss vielleicht dem zugeschrieben werden, dass dieser Forscher seine Versuche mit Hühnereiweiss, also vorwiegend mit Albumin, angestellt hat: bekanntlich besitzen die Albumine weder aus-

¹⁾ Journ. of Physiol. Vol. XXIV. p. 288.

gesprochen saure noch deutlich basische Eigenschaften. Ueberdies stellte die von Hardy benutzte Flüssigkeit keine Lösung, sondern eine Suspension dar.

Die Resultate, welche ich bei der Elektrolyse von Casein, Globin und einigen anderen Eiweisskörpern erhalten habe, stimmen mit dem bisher Gefundenen überein. Diejenigen Eiweisskörper, welche saure Eigenschaften aufweisen, wandern der Anode, diejenigen mit basischen Eigenschaften der Kathode zu.

Bei der Elektrolyse einer nach Schulz bereiteten und durch Dialyse neutralisirten Lösung von salzsaurem Globin wird das Globin an der Kathode ausgeschieden.

Es wird dagegen mit Essigsäure gefälltes, sodann mit Wasser ausgewaschenes und durch Zusatz von NaOH bis zur neutralen Reaction gelöstes Casein nach der Anode geführt. Ebenso verhielten sich auf ähnliche Weise bereitete Lösungen von Serumglobulin und von dem Nucleoprotein, welches neben dem Nucleohiston im Thymusextracte vorhanden ist.

Wäscht man das durch 0,8%ige HCl aus Calciumnucleohiston erhaltene Nuclein mit Wasser aus, bis alle überschüssige HCl entfernt ist, so kann das Nuclein durch Zusatz von NaOH zu einer neutralen Flüssigkeit gelöst werden. Beim Durchleiten eines Stromes durch diese Lösung setzt sich das Nuclein an der Anode ab.

Setzt man einer neutralen Lösung von Natriumnucleohiston eine gegen Lackmus neutral oder ein wenig alkalisch reagirende Lösung von HCl-Histon zu, so entsteht ein Niederschlag.

In Anbetracht der Reactionsfähigkeit des salzsauren Histons und des Natriumnucleohistons wird es sehr wahrscheinlich, dass diese zwei Substanzen bei ihrer Mischung derartig aufeinander einwirken, dass NaCl nebst der Verbindung von Nucleohiston mit Histon gebildet wird; ein oder mehrere Histonmolekeln vertreten dann die Stelle der Natriumatome im Natriumnucleohiston.

Falls die hier gegebene Erklärung die richtige ist, muss der Niederschlag relativ mehr Histon enthalten als das Nucleohiston; sodann muss der Aschengehalt des Niederschlags

relativ gering sein, weil die Verbindung kein Natrium mehr enthält.

Den Histongehalt des Nucleohistons habe ich auf folgende Weise zu bestimmen versucht:

Calciumnucleohiston wurde mit 1,2%iger Essigsäure, sodann mit Wasser ausgewaschen; das freie Nucleohiston wurde darauf während 14 Stunden mit 0,8%iger Salzsäure extrahiert. Sodann wurde das Nuclein durch ein gewogenes Filter abfiltriert; das Filter wurde mit 0,8%iger HCl, darauf mit Wasser ausgewaschen; die Filtrate wurden gesammelt. Das Nuclein auf dem Filter wurde bei 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet; das Gewicht des Nucleins war nach Abzug des Filtergewichts 1,6565 g.

Zur Bestimmung der im Filtrate befindlichen Histomenge wurde dasselbe vorher mittels Normalnatronlauge neutralisirt (Indicator Phenolphthalein). Aus der zugesetzten Menge von NaOH konnte berechnet werden, wieviel Chlornatrium dadurch in der Flüssigkeit gebildet worden war. Der Trockenrückstand dieser Flüssigkeit wurde bestimmt und nach Abzug des Gewichts des Chlornatriums stellte es sich heraus, dass 1,0934 g Histon vorhanden war.

Nach dieser Bestimmung lieferte das Nucleohiston also 60% Nuclein und \pm 40% Histon.

Auf ganz ähnliche Weise wurde der Histongehalt des durch Mischung von HCl-Histon und Natriumnucleohiston gebildeten Niederschlages bestimmt. Es wurde dazu eine neutrale Lösung von Natriumnucleohiston einer gegen Lackmus ein wenig alkalisch reagirenden Lösung von HCl-Histon zugesetzt; es entsteht dabei zuerst eine Opalescenz, welche sich beim weiteren Zusatz von Na-Nucleohiston in eine flockige Fällung umwandelt; falls zu viel oder zu wenig vom Na-Nucleohiston zugesetzt wird, setzt sich der Niederschlag weniger leicht am Boden ab.

Es stellte sich heraus, dass der Niederschlag 0,2799 g 38% Nuclein und 0,4625 g = 62% Histon enthielt. Der Histongehalt war also beträchtlich höher als beim Nucleohiston. Zugleich geht aus diesem Versuche noch hervor, dass das

zum Nucleohiston neu hinzugefügte Histon ebenfalls durch 0,8% ige Salzsäure extrahirt wird: durch Essigsäure kann aber, wie ich mich besonders überzeugt habe, aus der Verbindung von Nucleohiston mit Histon kein Histon extrahirt werden.

Wie schon dargethan, enthält das Na-Nucleohiston 7,29% Asche. Aus den obenstehenden Daten lässt sich berechnen, dass die Verbindung von Nucleohiston mit Histon, falls alle Aschenbestandtheile, welche das Na-Nucleohiston enthielt, also auch das Natrium, in dieser Verbindung vorhanden geblieben sind, ungefähr 4,61% Asche enthalten muss. Es ist dabei dann noch vorausgesetzt worden, dass das neu hinzugefügte Histon keine Asche enthält: diese Voraussetzung wird durch die folgende Bestimmung bestätigt.

0,2508 g Histon (bereitet durch Extraction von Ca-Nucleohiston mit 0,8% iger HCl, Dialyse der HCl-Histonlösung, Fällung mit NaOH, Lösung des Niederschlages in 0,2% ige Salzsäure, abermalige Dialyse, Fällung mit NaOH und Auswaschen des Niederschlages mit Alkohol zur Entfernung der Natronlauge) lieferten nach Verbrennung im Platintiegel keine wägbare Menge von Asche.

Wäre dagegen in der Verbindung des Nucleohistons mit Histon das Natrium nicht mehr vorhanden, so konnte der Aschengehalt dieser Verbindung weit niedriger als 4,61% erwartet werden, weil, wie schon dargethan worden ist, das freie Nucleohiston 2,50%, das Histon aber keine oder doch nahezu keine Asche enthält. Nachdem das freie Nucleohiston 60% Nuclein und 40% Histon enthält, so findet sich für eine 38% Nuclein und 62% Histon enthaltende Substanz durch Berechnung 1,58% Asche.

Von zwei Präparaten der Verbindung von Nucleohiston mit Histon wurde nunmehr der Aschengehalt bestimmt.

0,9694 g des Präparates I lieferten nach Veraschung im Porzellantiegel 0,0170 g Asche, Aschengehalt = 1,75%.

0,3568 g des Präparates II lieferten 0,0066 g Asche, Aschengehalt = 1,85%.

Obwohl der gefundene Aschengehalt etwas höher ist als der berechnete (1,58%), so berechtigt doch der grosse Unter-

schied mit dem oben berechneten Aschengehalt von 4,61% zu dem Schluss, dass bei der Fällung von HCl-Histon mit Na-Nucleohiston thatsächlich Chlornatrium und eine Verbindung von Nucleohiston mit Histon gebildet werden.

Mit dieser Vorstellung stimmt überein, dass das salzsaure Histon mit denjenigen Eiweisskörpern, welche mit Basen Salze bilden, z. B. Casein, Serumglobulin und anderen, Niederschläge zu bilden im Stande ist, während mit basischen Eiweisskörpern, welche mit Säuren Salze bilden, z. B. Globin, kein Niederschlag entsteht: beim Zusatz von einer dialysirten Lösung von salzsaurem Globin zu einer dialysirten Lösung von HCl-Histon erhielt ich keinen Niederschlag, obwohl jede dieser Lösungen für sich verschiedene Eiweisskörper zu fällen im Stande war.

Aus der Thatsache, dass die Alkalisalze des Nucleohistons in ihren wässrigen Lösungen elektrolytisch dissociirt sind, lässt sich einigermaassen der Einfluss von verdünnten Salzlösungen auf die Löslichkeit der Nucleohistonsalze erklären.

Setzt man dem Thymusextracte, worin das Nucleohiston als Alkalisalz vorhanden ist, Chlornatrium zu, bis der Gehalt daran ungefähr 0,9% beträgt, so wird das Alkalisalz des Nucleohistons theilweise gefällt. Nehmen wir an, dass dieses Alkalisalz durch das Natriumsalz dargestellt wird, so sehen wir demnach, dass durch Zusatz von Natrium-Ionen ein Theil des Natriumnucleohistons im undissociirten Zustande ausgeschieden wird. Die zugesetzten Natrium-Ionen verursachen also eine Verringerung des Dissociationsgrades und es zeigt sich, dass die dadurch gebildete undissociirte Verbindung weniger löslich ist als das dissociirte Molekel. Ein ähnliches Verhalten zeigen bekanntlich auch andere Verbindungen: Natriumurat ist z. B. in Kochsalzlösung weniger löslich als in Wasser. Falls das im Thymusextracte vorhandene Alkalisalz des Nucleohistons nicht durch das Natriumsalz dargestellt wird, sondern durch das Kalium- oder Ammonsalz, so lässt sich doch leicht erklären, dass durch Zusatz von NaCl ein Niederschlag hervor-

gerufen wird: es sind in diesem Falle nebeneinander Nucleohiston-Ionen, Kalium- resp. Ammonium-Ionen, Chlor-Ionen und Natrium-Ionen vorhanden: dem Ueberschusse der letzteren zufolge bildet sich undissociirtes Natriumnucleohiston, welches wegen seiner geringeren Löslichkeit ausfällt.

Wegen ihrer Bedeutung für den Dissociationsgrad des Natriumnucleohistons möchte ich noch auf die Thatsache aufmerksam machen, dass die Concentration der Natriumatome z. B. in einer schon relativ concentrirten, 1^o oigen Lösung von Natriumnucleohiston verhältnissmässig sehr gering ist: das Natriumnucleohiston enthält ungefähr 1,6% Natrium. Das Natrium ist also in einer Concentration von $\approx 0,016\%$ vorhanden. Diese Concentration stimmt ungefähr mit derjenigen der Natriumatome in einer 0,04^o oigen Kochsalzlösung überein. Auch lässt sich leicht berechnen, dass eine 1^o oige Lösung von Natriumnucleohiston ungefähr mit einer $\frac{1}{150}$ Normallösung von Natriumnucleohiston übereinstimmt.

Dieselben Betrachtungen, welche über die Ursache der Fällung der Alkalisalze des Nucleohistons mittels NaCl Aufschluss geben, lassen sich auch auf die Fällung mittels anderer Salze, z. B. CaCl_2 , BaCl_2 , MgSO_4 , ausdehnen. Nur zeigt es sich, dass z. B. das Calciumnucleohiston schon durch die in 0,1^o oigen CaCl_2 vorhandenen Calcium-Ionen vollständig in den undissociirten Zustand übergeführt wird und dass das undissociirte Calciumnucleohiston in der betreffenden Flüssigkeit vollkommen unlöslich ist.

Bekanntlich sind im Allgemeinen die organischen Säuren in geringerem Maasse dissociirt als ihre Alkalisalze. Dasselbe findet sich auch beim Nucleohiston: nur ist hier mit einer geringen Dissociation geringe Löslichkeit verknüpft. Thatsächlich ist das freie Nucleohiston in Wasser nahezu oder völlig unlöslich. Es kann aber durch Zusatz von Salzlösungen, z. B. 3^o oige Kochsalzlösung, gelöst werden. Ganz ähnlich verhalten sich im undissociirten Zustande die Salze des Nucleohistons: der Niederschlag, welcher sich im Thymusextracte beim Zusatz von 0,9^o oigem NaCl bildet, löst sich in 3^o oiger Kochsalzlösung; desgleichen lösen sich die durch CaCl_2 , BaCl_2 oder MgSO_4

gefällten Nucleohistonsalze im Ueberschuss. Mit dem Vorhergehenden stimmt weiterhin überein, dass die Verbindung von Nucleohiston mit Histon, die Verbindung also einer schwachen Säure mit einer schwachen Base, welche demnach wohl nicht dissociirt ist, in Wasser unlöslich ist, während dieselbe durch Kochsalzlösung gelöst werden kann.

Ebenso wie die Salze des Nucleohistons werden auch andere Eiweissalze durch verdünnte Alkali- oder Erdalkalisalze gefällt. Die Erklärung für das Zustandekommen dieser Fällungen ist wohl dieselbe, als die beim Nucleohiston gegebene. Doch zeigen die verschiedenen Eiweisskörper in dieser Hinsicht Unterschiede. Die wässrige Lösung der Alkalisalze des Nucleoproteids aus dem Thymusextracte wird z. B. durch Alkalisalze nicht gefällt, während CaCl_2 nur einen geringen Niederschlag verursacht. Dahingegen wird die Lösung der Alkalisalze des aus Nucleohiston bereiteten Nucleins durch Alkalisalze vollständig gefällt und löst sich der Niederschlag nicht im Ueberschuss.

Bereitet man eine Lösung des Natriumsalzes des Serumglobulins durch Fällung mittels Essigsäure aus Blutserum, Auswaschen des Niederschlags mit Wasser und Lösung desselben durch Zusatz von NaOH bis zur neutralen Reaction, so wird diese Lösung, wie Hammarsten nachwies, schon durch geringe Mengen von Alkalisalzen allerdings unvollständig gefällt. Während das Natriumnucleohiston bei einem Gehalte von 0,9% NaCl möglichst vollständig gefällt wird, ist dies nach meinen Versuchen beim Natriumsalz des Serumglobulins schon bei einem Gehalt von 0,3% Kochsalz der Fall; dahingegen löst sich diese Fällung viel leichter im Ueberschuss von NaCl als das Natriumnucleohiston: bei einem Gehalt von 0,9% NaCl ist alles Serumglobulin wieder gelöst. Das + 0,9% Salz enthaltende Blut vermag daher die Salze des Serumglobulins vollständig zu lösen.

Nachdem das Natriumnucleohiston durch Natrium-Ionen in den undissociirten Zustand übergeführt wird, erhebt sich die Frage, ob das HCl -Histon vielleicht durch Chlor-Ionen dieselbe Aenderung erleidet. Diese Frage darf man wohl bejahend beantworten, doch ist dann noch weiter zu untersuchen, ob

diese Ueberführung in den undissociirten Zustand schon bei einer geringen Concentration von Chlor-Ionen stattfindet und fernerhin, ob das gebildete undissociirte Produkt mehr weniger unlöslich ist. Die schon in einer Arbeit von Bang¹⁾ erwähnte Thatsache, dass die Lösungen des salzsauren Histons durch relativ geringe Mengen von Kochsalz, allerdings unvollständig, gefällt werden, muss vielleicht in dem oben angegebenen Sinne erklärt werden. Dem salzsauren Histon ähnlich verhält sich die Lösung des salzsauren Globins; falls diese Lösung ein wenig sauer reagirt, wird dieselbe schon durch relativ geringe Mengen von NaCl oder NH₄Cl gefällt.

1) Diese Zeitschrift, Band XXVII, S. 463.