

Einige Bemerkungen über die Bildung der Protamine im Tierkörper.

Von
A. Kossel.

Genauere Untersuchungen über die Spaltungsprodukte sind bisher bei folgenden Protaminen ausgeführt worden: Salmin, Clupein, Scombrin und Sturin; unvollständig bekannt sind: Cyclopterin und die Cyprinine. Alle stellen Kombinationen verschiedener Bausteine des Eiweißmoleküls dar und zwar sind diese organischen Gruppen offenbar ebenso wie im Eiweißmolekül miteinander verbunden. Die allen Eiweißkörpern eigene Biuretreaktion findet sich auch bei den Protaminen. Der einfachste Körper ist das Scombrin mit 4 Gruppen, das Salmin enthält 5, das Clupein und Sturin je 6 Gruppen. Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über den heutigen Stand unserer Kenntnisse.

	Scombrin	Salmin	Clupein	Sturin	Cyclopterin	α -Cyprinin	β -Cyprinin
Alanin	+	0	+	+	?	?	?
Serin	0	+	+	0	?	?	?
Amidovaleriansäure	0	+	+	0	?	+	+
Leucin	0	0	0	+	?	?	?
Diamidovaleriansäure (Ornithin)	+	+	+	+	+	+	+
Diamidocaprinsäure (Lysin) . .	0	0	0	+	0	+	+
Histidin	0	0	0	+	0	0	0
α -Pyrrolidinkarbonsäure	+	+	+	0	?	?	?
Tyrosin	0	0	0	0	+	0	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+
Tryptophan	0	0	0	0	+	0	0

Nachdem wir den chemischen Bau einer gewissen Anzahl von Protaminen in seinen Grundzügen festgestellt und den Zusammenhang dieser Körpergruppe mit den typischen Eiweißkörpern näher definiert haben, ist die Möglichkeit gegeben, bestimmte Vorstellungen über ihre Entstehung zu gewinnen. Vermutungen über diesen Prozeß sind bereits früher von anderen Autoren mehrfach ausgesprochen worden,¹⁾ doch konnten

¹⁾ z. B. Ehrström, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 351 (1901).

dieselben ohne die Kenntnis der das Protamin konstituierenden Atomgruppen keine feste Gestalt gewinnen.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Atomgruppen, aus denen das Protamin zusammengesetzt ist, während der Reifezeit des Testikels durch einen synthetischen Prozeß gebildet werden. Dieser Vorgang würde ein Analogon finden in der von A. Kossel¹⁾ und M. Tichomiroff²⁾ beobachteten Bildung der Purinkörper in dem Hühner- und Insektenei.

Ehe man aber eine solche Annahme macht, wird man die Frage in Erwägung ziehen müssen, ob nicht die Bausteine des Protamins schon fertig vorliegen und dem während der Zeit der Samenreifung zersetzten Eiweiß entnommen werden können. Eine Überschlagsrechnung ergibt, daß dies in der Tat möglich ist. Bekanntlich nimmt der Rheinlachs während der Zeit der Testikelreifung keine Nahrung zu sich und entnimmt dies Material für das Sperma dem Körper, wesentlich den Muskeln. Das während dieser Periode zersetzte Muskeleiweiß genügt vollauf, um das in der Testikelsubstanz aufgespeicherte Arginin zu liefern.

Da das Protamin etwa 6% der reifen Testikel und diese etwa 5% der Körpersubstanz ausmachen,³⁾ so würde ein Lachs, dessen Gewicht zur Laichzeit 9 Kilo beträgt, in seinen Testikeln etwa 27 g Protamin mit 22,8 g Arginin enthalten.

Nach meinen neueren Untersuchungen liefert das Myosin des Kaninchenmuskels etwa 7,1% Arginin und das bei 47° gerinnende Musculin ungefähr die gleiche Menge. Wenn es also zulässig ist, die Eiweißkörper der Fischmuskeln in dieser Hinsicht denen des Säugetiermuskels gleich zu setzen, so kann das gesamte Arginin in den Testikeln dieses Fisches aus 321 g Muskeleiweiß hervorgehen. Aus den Angaben und Berechnungen Mieschers ist leicht ersichtlich, daß von einem männlichen Lachs mit dem angeführten Endgewicht während der Periode der Testikelbildung weit mehr als diese Eiweißmenge zersetzt wird.⁴⁾

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 249.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 518.

³⁾ Vergl. Miescher, Die histochemischen und physiologischen Arbeiten, S. 172.

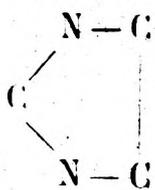
⁴⁾ F. Miescher, l. c. S. 117.

Die Protaminbildung kann also in der Weise vor sich gehen, daß ein Teil der Bausteine das Eiweißmolekül und zwar die stickstoffärmeren herausgelöst und zersetzt werden, während ein arginin- oder basenreicher Rest zurückbleibt. Bei dieser Umbildung nimmt die Mannigfaltigkeit in der Zusammensetzung des Eiweißmoleküls ab, aber es tritt eine eigentümliche Gruppierung von N und C hervor, welche im Zellkern entwicklungs-fähiger Zellen stets angetroffen wird.

Meine früheren Untersuchungen haben gezeigt, aus welchen organischen Atomgruppen sich das Nucleinsäuremolekül zusammensetzt. Neben einem Kohlehydratkomplex finden wir hier zwei Gruppen stickstoffreicher heterozyklischer Verbindungen: die Alloxurbasen und die einfachen Pyrimidinverbindungen. Ebenso wie diese Bestandteile der Nucleine zeichnen sich auch die Bausteine der Protamine durch den Reichtum an Stickstoff aus. In den Nucleinsäuren ebenso wie in den Protaminen finden wir Atomgruppen, die C und N in abwechselnder Anordnung enthalten.

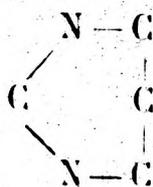
Atomgruppierung im:

Imidazolring



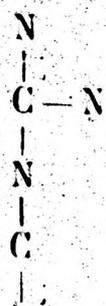
(In den Alloxurbasen, wahrscheinlich auch im Histidin.)¹⁾

Pyrimidinring



(In den Alloxurbasen, ferner im Uracil, Thymin, Cytosin.)

Arginin



Hier zeigt sich eine chemische Eigenförmlichkeit desjenigen Teils vom Protoplasma, welcher die Prozesse der Fortpflanzung oder der Neubildung organischer Substanz vollzieht.

Ebenso wie die Geschlechtszelle im Gegensatz zu den mit mancherlei anderen Funktionen betrauten und zum Teil hoch differenzierten Gewebszellen als ein einfacheres morphologisches Gebilde erscheint, so ist auch das Eiweiß in den von uns untersuchten männlichen Geschlechtszellen der Fische vereinfacht

¹⁾ Pauly, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 508.

worden, indem es bis auf die stickstoffreichen Protonkerne abgebaut worden ist. Die langen Kohlenstoffketten der Monoamidosäuren, die quantitativ so wesentlich am Aufbau der komplizierteren Eiweißkörper beteiligt sind, daß sie hier als Hauptsache imponieren, sind zum großen Teil verschwunden.

Diese den Reifungsvorgang begleitende Umbildung geht bei den verschiedenen Familien der Fische in verschiedenartiger Weise vor sich, bald bleiben diese, bald jene Gruppen neben dem Arginin zurück. Beim Salmin geht diese Abspaltung soweit, daß auf je 2 Moleküle Arginin nur etwa ein Molekül einer anderen Atomgruppe (Serin, Amidovaleriansäure, Prolin) zurückbleibt.¹⁾

Für das Prinzip dieser Auffassung ist es nicht notwendig, anzunehmen, daß das Protamin als Ganzes aus dem Eiweiß herausgelöst wird. Man wird es sogar als wahrscheinlicher bezeichnen müssen, daß das Protamin aus Bruchstücken des Eiweißmoleküls, z. B. aus protonartigen Komplexen, zusammengefügt wird, die beim Abbau des Eiweißmoleküls entstehen. Wenn das Protamin einem derartigen Abbau seine Entstehung verdankt, so darf man wohl erwarten, Zwischenstufen zwischen dem ursprünglichen Eiweiß und dem Protamin anzutreffen. Durch die von mir in Gemeinschaft mit F. Kutscher ausgeführten Untersuchungen²⁾ wird man auf die Histone als auf Vorstufen der Protamine hingewiesen. Unsere Analysen haben gezeigt, daß beide Körperklassen durch ihren Reichtum an Arginin gekennzeichnet sind, daß beide in ihrem chemischen Aufbau nach derselben Richtung hin vom typischen Eiweiß abweichen, beim Histon ist aber diese Abweichung eine geringere als beim Protamin. Diese Feststellung mußte schon damals ohne weiteres dazu führen, die Histone als Übergangsglieder bei der Protaminbildung aus Eiweiß anzusehen. Dieser Auffassung entspricht auch die von uns und von Ehrström³⁾ festgestellte Tatsache, daß das Protamin im Sperma der Gadiden durch Histon ersetzt ist. Hier bleibt der von mir angenommene Prozeß der Aus-

¹⁾ A. Kossel und H. D. Dakin, Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 414.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165 (1900).

³⁾ Ehrström, I. c.

störung von Amidosäuren gewissermaßen auf halbem Wege stehen. Im Molekül des Spermahistons ist soviel von den nicht basischen Gruppen zurückgeblieben, daß das Ganze noch die Kennzeichen der komplizierteren Eiweißkörper trägt.

Vielleicht können auch die am unreifen Testikel erhobenen Befunde in diesem Sinne gedeutet werden. Nachdem ich das Histon im Jahre 1884 in den Kernen der Vogelbluterythrocyten aufgefunden hatte,¹⁾ mußte die Frage aufgeworfen werden, ob nicht auch in anderen kernreichen Organen in Verbindung mit Nucleinsäure histonartige Stoffe anzutreffen sind. Solche wurden von Lilienfeld in der Thymusdrüse²⁾ und später von Miescher-Schmiedeberg³⁾ und J. Bang⁴⁾ in den unreifen Fischtestikeln festgestellt. Miescher und Schmiedeberg sprachen auch die Vermutung aus, daß dieses Histon (von ihnen Kernalbuminose genannt) als Vorstufe des Protamins anzusehen sei, und daß es durch Abspaltung von Leucin und Tyrosin in Protamin übergeht. Immerhin ist die Frage, in welchem Umfange der Umbildungsprozeß vom typischen Eiweiß zum Protamin in den reifenden Testikeln oder in anderen Organen verläuft, noch nicht gelöst.

Eine unter Zersetzung erfolgende Umbildung der Proteinstoffe wird aber nicht stets in derjenigen Richtung verlaufen, welche zur Entstehung basischer Eiweißkörper führt. Die im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen des Herrn A. J. Wakeman⁵⁾ erweisen sogar, daß der Abbau des Eiweißmoleküls im Körper sogar in entgegengesetztem Sinne vor sich gehen kann. Bei dem der Phosphorvergiftung folgenden Gewebszerfall verarmt das Gewebe an Arginin, sodaß das Verhältnis des Argininstickstoffs zum Gesamtstickstoff in den vergifteten Zellen absinkt.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 511.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 473 (1894).

³⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakologie, Bd. XXXVII (1896).
Miescher's histochemische und physiologische Arbeiten, S. 412
und 413 (1897).

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 463 (1899).

⁵⁾ Siehe die vorhergehende Mitteilung dieses Heftes, S. 335.

Auch die Gewebsfermente wirken in solcher Weise. Überläßt man tierische Gewebe nach dem Tode unter Abschluß der Fäulnis der Wirkung der in ihnen vorhandenen Enzyme, so kann das Arginin sogar ganz zerstört werden, offenbar erfolgt hier zunächst die Loslösung aus dem Verbande des Eiweißmoleküls, dann eine Zersetzung durch die Arginase.

Wir können also die Protaminbildung nicht ohne weiteres durch die Einwirkung der Gewebsenzyme erklären, sondern wir müssen einen Vorgang annehmen, welcher bewirkt, daß die basischen Gruppen, besonders das Arginin, vor der Spaltung geschützt werden.

Ein solcher Schutz kann von denjenigen Atomgruppen ausgehen, die mit dem Eiweiß in Verbindung stehen. Wir finden die basischen Eiweißkörper immer in Verkettung mit den stark sauren Resten der Phosphorsäure — in den Nucleinsäuren — oder der Schwefelsäure — in der Chondroitinsäure. Die beiden genannten Säuren vereinigen sich bekanntlich leicht mit Eiweiß zu festeren Verbindungen und sie werden die mit ihnen in Verbindung stehenden Komplexe vor den zersetzenden Kräften des Organismus schützen, wie die Benzoylgruppe das Glykokoll schützt.

Der Angriffspunkt für die Anfügung dieser sauren Gruppen liegt offenbar in dem basischen Teil des Eiweißmoleküls. Wenn also überhaupt ein derartiger Schutz durch die Anfügung der prosthetischen Gruppen ausgeübt wird, muß dieser sich vorwiegend auf den basischen Teil des Moleküls erstrecken. Nach dieser Auffassung würde die Bildung der stark basischen Histone und Protamine in ähnlicher Weise zu deuten sein, wie die Entstehung der histonähnlichen Körper, die Neuberg¹⁾ kürzlich im Amyloid nachgewiesen hat. In beiden Fällen mußte ursprünglich eine Verbindung von sauren prosthetischen Gruppen mit typischem Gewebsweiß vorhanden sein. Letzteres wird durch die in den Geweben verlaufenden Zersetzungs Vorgänge allmählich unter Erhaltung der basischen Gruppen abgebaut.

¹⁾ Verhandlungen d. Deutschen Pathologischen Gesellschaft, Siebente Tagung, 26.—28. Mai 1904.