

Der Ab- und Aufbau der Nucleinsäuren im tierischen Organismus.

Von

Emil Abderhalden und Alfred Schittenhelm.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. März 1906.)

Als einziger Endzweck der Verdauung gilt längst nicht mehr die Umwandlung der nicht resorptionsfähigen Nahrungstoffe in Produkte, welche die Darmschleimhaut passieren können. Viel wichtiger ist der Umstand, daß die Verdauungsfermente die dem Körper ganz fremdartigen Bestandteile der Nahrung abbauen und in die einfachen Bausteine zerlegen. Dadurch wird dem tierischen Organismus die Möglichkeit geboten, seinen eigenen Körperbestand in seiner Zusammensetzung konstant zu erhalten. Er kann aus den ihm gebotenen Spaltprodukten, ganz gleichgültig, welcher Herkunft sie sein mögen, stets dieselben Gewebsbestandteile aufbauen. Es gilt dies in ganz besonderem Maße für das Eiweiß, wie der eine von uns bereits früher ausführlich betont hat.¹⁾ Die verschiedenartigsten Proteine, stammen sie aus der Tier- oder Pflanzenwelt, zerfallen schließlich im Darmkanal in die einfachsten Bausteine, in Aminosäuren und zum Teil auch in kompliziertere, offenbar polypeptidartige Bestandteile. Höchst wahrscheinlich vollzieht sich bereits in der Darmwand die Synthese zu körpereigenem Eiweiß, d. h. in erster Linie zu den Serumeiweißkörpern.²⁾ Die Körperzellen werden

¹⁾ Emil Abderhalden, Die Bedeutung der Verdauung der Eiweißkörper für deren Assimilation, Zentralblatt f. Stoffwechsel- u. Verdauungskrankheiten, Jg. V, Nr. 24, S. 647, 1904.

²⁾ Emil Abderhalden und Franz Samuely, Beitrag zur Frage nach der Assimilation des Nahrungseiweiß im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 193, 1905.

durch diese Einrichtung im weitesten Maße von der Art der Nahrungsstoffe und ihrer Zusammensetzung unabhängig. Es wird ihnen stets eine einheitliche Nahrung durch das Blut zugeführt. Die Verdauung und die Funktionen des Darmes erhalten durch diese Anschauungen eine ganz besondere Bedeutung. Wir wissen, daß auch das Pflanzenreservekohlehydrat, die Stärke, ehe es in Glykogen übergehen kann, in Traubenzuckermoleküle übergehen muß. Ferner ist es höchst wahrscheinlich, daß auch Lecithin und Fett in ihre Bausteine zerfallen, ehe sie assimiliert werden.

Eine Ausnahmestellung nimmt nun scheinbar die Nucleinsäure ein. Wir wissen, daß die Nucleoproteide bereits im Magen in den einen Eiweißkomponenten und in Nuclein zerfallen, und es ist sehr wahrscheinlich, daß der Eiweißpaarling des letzteren gleichfalls unter der Einwirkung der proteolytischen Fermente des Darmkanals in seine Bausteine aufgelöst wird. Für die Nucleinsäure dagegen ist ein derartiges Verhalten bis jetzt nicht bekannt. A priori sollte man erwarten, daß auch sie, ehe sie dem Körperbestande einverleibt wird, in ihre Komponenten: Purin-, Pyrimidin- und Kohlehydratkomplex zerfällt. Bis jetzt ist jedoch ein einwandfreier Beweis, daß Pepsinsalzsäure oder Trypsin einen derartigen Abbau bewirken, nicht erbracht. Wir dürfen auch nicht erwarten, daß die spezifischen proteolytischen Fermente imstande sind, das Nucleinsäuremolekül anzugreifen; dagegen ist es wohl möglich, daß im Magen- oder Darm- oder Pankreassaft ein auf dieses eingestelltes Ferment vorhanden ist.

Nun hat in neuester Zeit Sachs¹⁾ in Verfolgung früherer Versuche von Araki²⁾ und Nakayama³⁾ nachgewiesen, daß die Pankreasdrüse ein Ferment besitzt, eine Nuclease, die Nucleinsäure zu spalten vermag. Sie ist als ein intracelluläres Ferment aufzufassen und spielt offenbar im intracellulären Stoff-

¹⁾ Fritz Sachs, Über die Nuclease, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 337, 1905.

²⁾ T. Araki, Über enzymatische Zersetzung der Nucleinsäure, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 84, 1903.

³⁾ M. Nakayama, Über das Erepsin. Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 348, 1904.

wechsel eine Rolle, was daraus hervorgeht, daß es sich auch in anderen Organen findet, wie Kalbsthymus, Hundepankreas und Kalbsniere. Dasselbe dürfte wohl als identisch aufgefaßt werden mit den von dem einen von uns schon früher in Milz, Leber und anderen Organen des Rindes aufgefundenen, α -thymonucleinsaures Natrium und die Nucleoproteide des eigenen Organes spaltenden Fermente.¹⁾ Sachs zeigte nun weiter, daß die Nuclease des Pankreasextraktes gegen Trypsin sehr empfindlich ist, und vermutet daher, daß sie im Pankreassekrete nicht nachzuweisen wäre.

Es wäre nun trotzdem denkbar, daß das in inaktiver Form sezernierte Sekret der Pankreasdrüse ein derartiges Ferment enthalten würde. Wir ließen daher einesteils inaktiven Pankreassaft vom Hunde und andernteils durch Zugabe von Enterokinase aktivierten Saft auf thymonucleinsaures Natrium einwirken und beobachteten, daß sehr bald in beiden Fällen eine Verflüssigung des nucleinsäuren Natriums eintrat. Wir vermochten jedoch in keinem Falle freie Purinbasen nachzuweisen. Mit diesem Prozesse geht unzweifelhaft eine Veränderung der Nucleinsäure einher, denn das zurückgewonnene Produkt hatte ein ganz anderes Aussehen als das Ausgangsmaterial und auch andere Eigenschaften. Es war weniger voluminös, löste sich auffallend rasch in Wasser, besser und schneller als α -thymonucleinsaures Natrium und gelatinisierte nicht.

Anders verhält sich die Sache bei der Einwirkung von Hundemagensaft auf α -thymonucleinsaures Natrium. Es trat zwar in einem Versuche auch eine leichte Verflüssigung ein; das α -thymonucleinsäure Natrium konnte jedoch nach Schluß der Versuche nahezu quantitativ in offenbar unverändertem, normal gelatinisierendem Zustande wiedergewonnen werden. Es hatte also offenbar keine umfangreichere Einwirkung des Magensaftes auf die Thymonucleinsäure stattgefunden.

Der Schluß, daß das α -thymonucleinsäure Natrium durch

¹⁾ Alfred Schittenhelm, Über die Harnsäurebildung in Gewebsauszügen, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 251, 1904; Über die Harnsäurebildung und die Harnsäurezersetzung in den Auszügen der Rinderorgane. Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 121, 1905.

das Sekret der Pankreasdrüse des Hundes eine Veränderung erfährt, obwohl als deren Ausdruck nicht eine Abspaltung von Purinbasen nachzuweisen ist, erfuhr seine Bestätigung durch Versuche, die wir unter Anwendung der Dialyse anstellten. Zunächst zeigte sich, daß in einer Lösung von α -thymonucleinsaurem Natrium so gut wie keine dialysable Substanzen vorhanden sind. Anders verhält sich die Sache, sobald der Dialyseversuch mit der Einwirkung von Pankreassaft vergesellschaftet wurde. Es zeigte sich, daß nach 4 Tagen etwa der vierte Teil der angewandten Substanz ins Dialysat übergegangen war. Es war also ohne Zweifel eine Veränderung vor sich gegangen. Welcher Art dieselbe ist, ob es sich dabei um einen Prozeß handelt, wie bei der Umwandlung von Eiweiß in Albumosen und Peptone, oder aber um eine Spaltung der Nucleinsäure etwa in einen purinbasenhaltigen und purinbasenfreien Teil, können wir bis jetzt noch nicht entscheiden. Wir werden aber unsere Versuche fortsetzen.

Ganz verschieden von der Wirkung der Verdauungssäfte ist diejenige der Extrakte des Pankreas und des Darmes. Wir verwandten zu deren Herstellung Organe des Rindes. Es zeigte sich, daß bei ihrer Einwirkung auf α -thymonucleinsaures Natrium rasch Verflüssigung und Abspaltung freier Purinbasen auftritt. Es besteht also ein prinzipieller Unterschied zwischen der Arbeit der Verdauungssäfte und derjenigen der intracellulären Fermente. Die völlige Aufspaltung der Nucleinsäure geschieht demnach erst jenseits der Darmwand. Wenn wir in Analogie mit der Transformation von Nahrungseiweiß in Körpereiwweiß annehmen, daß auch die Nucleinsäuren der Nahrung, bevor sie als Bausteine unserer Gewebe dienen, abgebaut und von neuem aufgebaut werden, so würde sich zwischen den Proteinen und Nucleinsäuren nur insofern ein Unterschied ergeben, als letztere im Darne offenbar nur einer leichten Aufspaltung unterliegen, und erst in der Darmwand selbst in ihre Bausteine zerfallen. Die Verlegung der Umwandlung der körperfremden Nucleinsäuren in körpereigene in die Darmwand erscheint uns deshalb zweckmäßig, weil speziell im Darmkanal abgespaltene Purinbasen ihrer Schwerlöslichkeit wegen der Resorption entgehen könnten.

Im folgenden bringen wir eine kurze Darstellung unserer Hauptversuche:

Wir bemerken sofort, daß wir den Nachweis der freien Purinbasen in jedem einzelnen Versuche durch Teilung desselben in zwei Portionen auf zweierlei Weise versuchten. Aus der einen Portion fällten wir die übrig gebliebene Nucleinsäure mit Alkohol unter Zugabe von Natriumacetat, aus der andern als Kupfersalz durch Zugabe von gelöstem Kupfersulfat: der Nachweis der Purinbasen geschah dann in der ersten Portion nach Wegdampfen des Alkohols mittels ammoniakalischer Silberlösung und Kupfersulfat-Bisulfit, in der zweiten nur nach der Kupfersulfat-Bisulfitmethode. Bei den Extraktversuchen nahmen wir zunächst eine Eiweißfällung durch vorsichtiges Erwärmen mit Essigsäure oder durch Ausfällung mit Alkohol in der Kälte vor.

Versuch I. 10 g α -thymonucleinsaures Natrium in 250 ccm Wasser gelöst + 10 ccm Pawlow'schem Hundemagensaft + Toluol. Die Lösung, welche von dickflüssiger Konsistenz ist und gleichmäßig getrübt erscheint, bleibt 19 Tage im Brutschrank. Sie wird dabei etwas dünnflüssiger, ohne die Farbe zu wechseln oder sonst irgendwelche Veränderungen zu zeigen. Das wiedergewonnene Produkt (8,5 g) zeigt die Eigenschaften des α -thymonucleinsauren Natriums und gelatinisiert prompt. Freie Purinbasen sind nicht nachzuweisen.

Versuch II. 10 g α -thymonucleinsaures Natrium in 250 ccm Wasser gelöst + 5 ccm inaktiven Pawlow'schen Pankreassaftes + Toluol verbleiben ebenfalls 19 Tage im Brutschrank. Dabei wird die Lösung vollkommen dünnflüssig und klärt sich unter Abscheidung einiger kleiner Flocken gänzlich. Reaktion am Schlusse sauer. Nach Abscheidung der Nucleinsäure lassen sich keine freien Purinbasen nachweisen. Die wiedergewonnene Nucleinsäure ist sehr leicht wasserlöslich und gelatinisiert nicht.

Versuch III. 10 g α -thymonucleinsaures Natrium in 250 ccm Wasser gelöst + 5 ccm aktiviertem Pawlow'schem Pankreassekret + Toluol verbleiben wiederum 19 Tage im Brutschrank. Dabei wird die Lösung gänzlich dünnflüssig und klärt sich vollkommen unter Abscheidung einiger Flocken. Die Reaktion ist am Schlusse des Versuchs sauer. Freie Purinbasen lassen sich

nicht nachweisen. Die wiedergewonnene Nucleinsäure gelatinisiert nicht und ist sehr leicht wasserlöslich.

Versuch IV. 5 g α -thymonucleinsaures Natrium in 125 ccm Wasser gelöst + 100 ccm eines wässrigen Extraktes von Rinderpankreas (2 Teile Pankreas, 1 Teil Wasser) + Toluol. Nach 3 tägigem Stehen im Brutschrank lassen sich nach den verschiedensten Methoden stets reichlich freie Purinbasen nachweisen. Eine kleine Extraprobe (5%ige Lösung von α -thymonucleinsaurem Natrium) wird über Nacht verflüssigt.

Versuch V. 5 g α -thymonucleinsaures Natrium in 125 ccm Wasser gelöst + 100 ccm eines wässrigen Extraktes von Rinderdarm (2 Teile Darm, 1 Teil Wasser) + Toluol. Genau derselbe Erfolg wie in Versuch IV. Auch die Extraprobe wird über Nacht verflüssigt.

Versuch VI. 4 g α -thymonucleinsaures Natrium in 100 ccm Wasser gelöst drei Tage im Brutraum der Dialyse ausgesetzt. Danach wird das Dialysat eingedampft; erhalten 0,05 g Rückstand. Das im Dialysenschlauch Zurückgebliebene beträgt eingedampft als Trockenrückstand 3,7 g.

Versuch VII. 4 g α -thymonucleinsaures Natrium in 100 ccm Wasser gelöst + 5 ccm Pankreassaft + Toluol zunächst zwei Tage im Brutraum, dann ebenda drei Tage der Dialyse ausgesetzt. Das eingedampfte Dialysat hinterläßt 0,9 g Trockenrückstand, das im Dialysenschlauch zurückgebliebene 2,6 g.

Die scheinbaren Substanzverluste im Versuch VI und VII sind auf den verschiedenen Wassergehalt von Ausgangssubstanz und Trockenrückstand zurückzuführen.