

Studien über die Bildung der Seide.

Von

Emil Abderhalden und **H. R. Dean.**

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 5. März 1909.)

Für die ganze Auffassung des Eiweißstoffwechsels ist es von grundlegender Bedeutung, zu erfahren, ob der tierische Organismus Aminosäuren, sei es durch Aufbau oder Abbau, neu bilden kann, oder aber, ob er an die ihm mit der Nahrung zugeführten Bausteine gebunden ist. A priori läßt sich die Möglichkeit einer weitgehenden Umwandlung von bestimmten Aminosäuren in andere nicht von der Hand weisen, auch die Synthese von Aminosäuren aus Bruchstücken des Eiweißumsatzes ist nicht von der Hand zu weisen. Daß Glykokoll nicht nur durch hydrolytischen Abbau von Proteinen entsteht, sondern noch eine andere Quelle haben muß, machen die Erfahrungen über die Hippursäurebildung nach Benzoesäurezufuhr sehr wahrscheinlich. Eine Entscheidung des erwähnten Problems kann nur der direkte Nachweis einer Neubildung von Aminosäuren geben. Der eine von uns hat bereits in Gemeinschaft mit Kempe¹⁾ den Gehalt von befruchteten Hühnereiern in verschiedenen Stadien der Bebrütung an Monoaminosäuren nach erfolgter totaler Hydrolyse verglichen. Es ließen sich keine Unterschiede im Gehalte an Tyrosin, Glykokoll und Glutaminsäure nachweisen, die groß genug gewesen wären, um bestimmte Schlüsse im Sinne einer Neubildung von Aminosäuren zu ziehen. Wir haben die ganze Fragestellung wieder aufgenommen und die Frage zu beantworten gesucht, ob die Seidenraupe das zur Bildung der Seide dienende Material im Moment des Spinnens des Cocons bereits fertig

¹⁾ Emil Abderhalden und Martin Kempe, Vergleichende Untersuchung über den Gehalt von befruchteten Hühnereiern in verschiedenen Entwicklungsperioden an Tyrosin, Glykokoll und an Glutaminsäure. Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 398, 1907.

vorrätig enthält, oder aber, ob ein weitgehender Umbau der Bildung des Seidenfadens vorausgeht. Der Seidenfaden enthält viel Tyrosin, Glykokoll und Alanin. Diese drei Aminosäuren lassen sich leicht nachweisen und zum Teil auch ihrer Menge nach recht gut bestimmen. Die Möglichkeit war gegeben, daß erst im Momente der Abgabe des Seidenfadens die eine oder andere Aminosäure sich bildet, resp. in so großer Menge auftritt. Wir wählten zu unseren Versuchen Raupen von *Bombyx mori*, die sich eben anschickten, in das Puppenstadium überzugehen. Wir versuchten zunächst die Spinndrüsen und ihren Inhalt zu isolieren, doch hätten wir auf diesem sehr mühsamen Wege kaum genügend Material erhalten, und vor allem war eine Abtrennung des Drüsensekretes vom Drüsenschlauche selbst kaum durchzuführen. Wir haben deshalb, gewissermaßen als orientierenden Versuch, die ganzen Raupen verarbeitet, d. h. getrocknet, mit Säure hydrolysiert und die Monoaminosäuren in gewohnter Weise mit Hilfe der Estermethode bestimmt. Die erhaltenen Resultate verglichen wir mit den entsprechenden Werten, die bei der Hydrolyse von eben ausgeschlüpften Schmetterlingen erhalten worden waren.¹⁾ Eine Vergleichung der gefundenen Mengen an Monoaminosäuren ergibt ohne weiteres, daß die Raupen im Momente, in dem sie den Seidenfaden abzugeben beginnen, in ihrem Körper auffallend große Vorräte an denjenigen Monoaminosäuren haben, die am Aufbau der Seide beteiligt sind. Die Seide wird zunächst in flüssigem Zustand von der Spinndrüse abgegeben. Ohne Zweifel entfalten die Zellen dieser Drüse eine ganz spezifische Tätigkeit. Es ist nach allen Erfahrungen kaum anzunehmen, daß den Drüsenzellen schon fertiges Seidenmaterial zugeführt wird. Wir müssen uns vielmehr vorstellen, daß die Drüsenzellen die von ihnen aufgenommenen Proteine umbauen. Hierbei scheinen nun nach unserem Befunde höchstwahrscheinlich keine neuen Aminosäuren zu entstehen. Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß die Raupen im Momente des Überganges zum Puppenstadium schon das ge-

¹⁾ Vgl. die nächstfolgende Abhandlung: Emil Abderhalden und Wolfgang Weichardt, Die Monoaminosäuren des Körpers des Seiden-spinners. (Diese Zeitschrift, Bd. LIX, 1909.)

samte Seidenmaterial in ihren Drüsenschläuchen vorrätig haben. Es ist uns nicht bekannt, ob Erfahrungen über die Funktion der Spinndrüse während des Baues des Cocons vorliegen, d. h. ob die Drüse während des Spinnens noch beständig Seidenmaterial abgibt. Wir hoffen, nach dieser Richtung unsere Studien noch ausdehnen und vervollständigen zu können.¹⁾ Vor allen Dingen wird es unsere Aufgabe sein, den Gehalt des Futters der Seidenraupe an Monoaminosäuren genau festzustellen und zu bestimmen, wie viel Maulbeerblätter eine einzelne Raupe während ihres Lebens aufnimmt. Die Lösung dieser Aufgabe muß am ehesten Aufschluß über die etwaige Neubildung von Aminosäuren geben.

Experimenteller Teil.

Zur Hydrolyse wurden 685 g bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Seidenraupen verwendet. Sie enthielten 4% Aschenbestandteile. Die Seidenraupen wurden mit der fünf-fachen Menge 25%iger Schwefelsäure 16 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Es blieben 133,6 g Melaninsubstanz ungelöst zurück. Die filtrierte Gesamtflüssigkeit wurde dann auf 8600 ccm aufgefüllt und in 100 ccm der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl festgestellt. Er betrug 10% der trockenen, asche- und melaninfreien Substanz.

Die Darstellung der einzelnen Aminosäuren erfolgte nach den bekannten Methoden. Zunächst bestimmten wir nach Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt das Tyrosin durch Kry-stallisation, und darauf wurde die Mutterlauge dieser Amino-säure zur Trockene verdampft und der Rückstand verestert. Die Ester wurden mit Alkali und Kaliumcarbonat in Freiheit gesetzt, nachdem vorher der größte Teil des Glykokolls als Esterchlorhydrat abgetrennt worden war.

Die Ausbeuten an Aminosäuren sind in der Weise berechnet worden, daß der gefundene Gehalt an Stickstoff = 52,4 g N

¹⁾ Nach dieser Richtung wird die Beobachtung, daß Seide und auch andere animalische Stoffe (Wolle usw.) sich mit Millons Reagens ohne Veränderung der Struktur prachtvoll rot färben, dem Studium der Seidenbildung in den Drüsen sehr nützlich sein. Abderhalden.

mit 6,25 multipliziert wurde = 327,5 g. Selbstverständlich sind die so gewonnenen Zahlen nur Annäherungswerte, weil sicher nicht aller Stickstoff in Form von Eiweiß vorhanden war. Gefunden wurden an:

Glykokoll	33.5 g = 10,2%
Alanin	28.5 „ = 8,7%
Valin	5,5 „ = 1,7%
Leucin	16.0 „ = 4,8%
Asparaginsäure	5,2 „ = 1,6%
Glutaminsäure	11,5 „ = 3,5%
Phenylalanin	8,0 „ = 2,4%
Tyrosin	14,0 „ = 4,3%
Prolin	5,0 „ = 1,5%

Von den erhaltenen Resultaten ist besonders der hohe Gehalt an Glykokoll und Alanin hervorzuheben. Auch die Menge des Tyrosins ist eine bedeutende. Alle anderen Aminosäuren treten erheblich an Menge zurück. Das Glykokoll ist als Pikrat und durch den Schmelzpunkt des salzsauren Esters (144° korr.) identifiziert worden.

Alanin:

0,1663 g Substanz gaben 0,2480 g CO₂ und 0,1200 g H₂O.
 Berechnet für C₃H₇NO₂: Gefunden:
 40,44% C und 7,86% H. 40,67% C und 8,07% H.

Valin:

0,1554 g Substanz gaben 0,2925 g CO₂ und 0,1321 g H₂O.
 Berechnet für C₅H₁₁NO₂: Gefunden:
 51,28% C und 9,40% H. 51,33% C und 9,51% H.

Leucin und Prolin wurden als Kupfersalz identifiziert. Vom Leucin wurde außerdem die Drehung bestimmt.

Asparaginsäure:

0,1734 g Substanz gaben 0,2294 g CO₂ und 0,0821 g H₂O.
 Berechnet für C₄H₇NO₄: Gefunden:
 36,09% C und 5,26% H. 36,08% C und 5,3% H.

Tyrosin:

0,1490 g Substanz gaben 0,3255 g CO₂ und 0,0844 g H₂O.
 Berechnet für C₉H₁₁NO₃: Gefunden:
 59,66% C und 6,08% H. 59,57% C und 6,34% H.

Glutaminsäure und Phenylalanin wurden als Chlorhydrat isoliert und durch die Chlorbestimmung identifiziert.