

Notiz zum Nachweis peptolytischer Fermente in Tier- und Pflanzengeweben.

Von
Emil Abderhalden.

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 30. März 1910.)

Wie kürzlich hervorgehoben worden ist,¹⁾ bereitet der einwandfreie Nachweis von peptolytischen Fermenten im Tier- und Pflanzenreich oft große Schwierigkeiten. Bei Zellen, deren Wände sich leicht durch Zerreiben mit Quarzsand zerstören lassen, kann man derartige Fermente im allgemeinen ohne Schwierigkeiten mit Hilfe von mit dem Buchnerschen Verfahren dargestelltem Preßsaft nachweisen, doch ist diese Methode umständlich und zeitraubend. Zu orientierenden Versuchen ist folgendes Verfahren zu empfehlen. Die zu untersuchenden Organe werden — falls es sich um Tiergewebe handelt, nach vorheriger Entfernung des Blutes — in dünne Schnitte zerlegt, oder es wird auch nur eine Schnittfläche angelegt. Nun wird das Gewebstück in eine 25%ige Lösung von Seidenpepton gelegt und das Präparat nach Überschichtung der Lösung mit Toluol in einem verschlossenen Gefäß in den Brutschrank gebracht. Oft beobachtet man schon nach 12 Stunden reichliche Abscheidung von Tyrosinkristallen. Sie treten in erster Linie an den Schnittflächen auf. Man kann auch die Seidenpeptonlösung in die Organe hineinsaugen und dann beobachten, ob in den Zellen Tyrosinausscheidung erfolgt. Vielleicht wird es mit dieser Methode möglich sein, die Art der Verteilung der peptolytischen Fermente auf einzelne Zellen zu beobachten. Jedenfalls gestattet diese einfache Methode in relativ kurzer Zeit und ohne

¹⁾ Emil Abderhalden und Hans Pringsheim, Beitrag zur Technik des Nachweises intracellulärer Fermente. Diese Zeitschrift, Bd. LXV, S. 180, 1910.

jede Apparatur vergleichende Untersuchungen über den Gehalt bestimmter Gewebe an peptolytischen Fermenten anzustellen. Es ist die Möglichkeit gegeben, normale und pathologische Gewebe zu vergleichen und ganz allgemein orientierende Versuche über den Funktionszustand bestimmter Gewebe zu machen. Vorläufige Untersuchungen haben ergeben, daß Niere, Lunge, Dünndarm und Ovarium eine ganz besonders reiche Tyrosinabscheidung zeigen, während die Muskeln ein bedeutend geringeres Spaltvermögen aufweisen. Alle untersuchten Organe gaben eine Spaltung. Es ist nicht empfehlenswert, die Dauer der Versuche über mehr als 3—4 Tage auszudehnen. Auch in Pflanzengeweben lassen sich mit diesem Verfahren peptolytische Fermente nachweisen. Man wird ohne Zweifel auch feststellen können, in welchem Stadium der Keimung zuerst aktive peptolytische Fermente nachweisbar ist.

Ein anderes Verfahren, das speziell zum mikrochemischen Nachweis von peptolytischen Fermenten wertvoll ist, beruht auf der von Kempe und mir¹⁾ gemachten Beobachtung, daß Polypeptide, welche Tryptophan enthalten, mit Bromwasser keine Violettfärbung geben. Erst, wenn Tryptophan abgespalten wird, tritt die Reaktion auf. Wir haben damals schon hervorgehoben, daß das Auftreten der Tryptophanreaktion sich direkt dazu verwenden läßt, um den Gang der Hydrolyse derartiger Polypeptide unter der Einwirkung peptolytischer Fermente zu verfolgen.²⁾ Die damals in Aussicht gestellte Mitteilung über Untersuchungen, die Verwendbarkeit tryptophanhaltiger Polypeptide zum Nachweis peptolytischer Fermente betreffend, ist durch die Arbeit von O. Neubauer und Hans Fischer³⁾ zum Teil überflüssig geworden. Glycyl-l-tryptophan, l-Tryptophyl-glycin, d-Alanyl-l-tryptophan, l-Leucyl-l-tryptophan, l-Leucyl-glycyl-l-tryptophan, l-Tryptophyl-d-glutaminsäure werden durch

¹⁾ Emil Abderhalden und Martin Kempe, Synthese von Polypeptiden. XX. Derivate des Tryptophans. Ber. der Deutsch. chem. Ges., Jg. XL, S. 2737. 1907.

²⁾ l. c., S. 2740.

³⁾ Otto Neubauer und Hans Fischer, Über das Vorkommen eines peptidspaltenden Ferments im carcinomatösen Mageninhalt und seine diagnostische Bedeutung. Archiv f. klin. Medizin, Bd. XCVII, S. 499, 1909.

Pankreassaft, Hefepreßsaft und verschiedene Organpreßsäfte gespalten. Die Feststellung der Spaltung erfolgte auf optischem Wege. Die tryptophanhaltigen Polypeptide eignen sich nicht so gut zu Untersuchungen mit tierischen Geweben, weil zu leicht Täuschungen dadurch entstehen können, daß durch Autolyse Tryptophan aus den Proteinen der Zellen abgespalten werden kann. Will man die Spaltung eines bestimmten tryptophanhaltigen Polypeptids durch die Fermente eines Organes nachweisen, dann müssen ausreichende Kontrollversuche ohne Polypeptidzusatz ausgeführt werden. Will man dagegen nur auf die Anwesenheit von peptolytischen resp. proteolytischen Fermenten prüfen, dann ist es schließlich gleichgültig, woher das Tryptophan, von dessen Abwesenheit man sich vorher überzeugt hat, stammt. Im allgemeinen dürften Versuche mit Seidenpepton in diesen Fällen geeigneter sein, weil das ausgeschiedene, makroskopisch sichtbare Tyrosin in erster Linie aus dem tyrosinreichen Seidenpepton stammen muß.

Zur Prüfung auf das Vorhandensein von peptolytischen Fermenten im Pflanzengewebe sind dagegen tryptophanhaltige Polypeptide sehr geeignet. Wir benutzten zu den Vorversuchen eine 10%ige Glycyl-l-tryptophanlösung. Sie gab mit Bromwasser keine Reaktion. Wir legten Schnitte durch verschiedene Teile einer Pflanze an und brachten sie dann in die genannte Lösung, die mit Toluol überschichtet war. Nach 12, 24, 36 und 48 Stunden entfernten wir die Schnitte und prüften die Lösung auf Tryptophan. Die Bromreaktion fiel meist positiv aus. Ferner setzten wir die Schnitte, nachdem wir sie abgespült hatten, Bromdämpfen aus. Wir erhielten in vielen Fällen eine schöne Violett färbung und zwar ließ sich diese genau lokalisieren. Bei Schnitten durch den Stamm zeigten speziell die Gefäße Violett färbung. Man kann auch die Glycyl-l-tryptophanlösung durch die Pflanze durchsaugen und wiederum die Lösung prüfen und die einzelnen Organe in Schnitten. Auf diesem Wege ließ sich eine äußerst rasch erfolgende Spaltung nachweisen. Das vorliegende Material ist zu gering, um jetzt schon bestimmte Schlußfolgerungen über die Lokalisation der Fermente zu ermöglichen.