

Untersuchungen über die Fermente verschiedener Bakterienarten.

Von

Emil Abderhalden, Ludwig Pincussohn und Adolf R. Walther.

Mit vier Kurvenzeichnungen im Text.

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

(Der Redaktion zugegangen am 14. August 1910.)

Es ist wiederholt darauf hingewiesen worden, daß die Möglichkeit gegeben ist, bei Anwendung von Substraten bekannter Struktur die Zellfermente verschiedener Herkunft zu vergleichen und durch eventuelle Unterschiede in der Art des Abbaues zu charakterisieren. Vorläufig stehen uns zu derartigen Untersuchungen als Substrat nur die synthetisch dargestellten Polypeptide zur Verfügung. Da diese sehr schwer zugänglich sind, so haben wir zu den ersten orientierenden Versuchen Peptone angewandt, die wir nach einheitlichen Methoden aus verschiedenartigen Eiweißstoffen dargestellt hatten. Sie sind alle durch Einwirkung von 70%iger Schwefelsäure in der Kälte auf bestimmte Proteine gewonnen worden. Die Struktur dieser Peptone kennen wir zwar nicht, wir können jedoch die Art des Abbaues dieser Substanzen unter dem Einfluß peptolytischer Fermente verschiedener Herkunft vergleichen. Wir betrachten die Verwendung von Peptonen nur als Notbehelf und werden die gewonnenen Resultate, sobald sich Gelegenheit bietet, mit Hilfe von synthetisch dargestellten Polypeptiden kontrollieren.

Wir haben vorläufig folgende Fragestellungen in Angriff genommen:

1. *Enthält die Kulturflüssigkeit verschiedenartiger Bakterien Stoffe, die auf Peptone einwirken?*

Diese Fragestellung suchten wir in folgender Weise zu beantworten: Wir züchteten einige Bakterienarten — paratyphusähnlicher Bacillus (hygien. Institut der tierärztl. Hochschule, Berlin), Streptococcus pleuropneumoniae, Paratyphus B. (hygien. Institut der Universität, Berlin) — auf Bouillon und zwar verschieden lange Zeit. Die Kulturflüssigkeit wurde dann zentrifugiert. Nun setzten wir eine be-

stimmte Menge der Kulturflüssigkeit zu einer 10%igen Peptonlösung. Das Gemisch wurde dann in ein Polarisationsrohr eingefüllt und die Anfangsdrehung bestimmt. Die Ablesung wurde von Zeit zu Zeit wiederholt und festgestellt, ob Änderungen vorhanden waren. Die Resultate sind die folgenden:

Die Kulturflüssigkeit des paratyphusähnlichen Bacillus verhielt sich ganz verschieden, je nach dem Zeitpunkt, in dem sie zur Untersuchung gelangte. Nach 2tägiger Kulturspaltete die Kulturflüssigkeit Caseinpepton und Eieralbuminpepton. Eiereiweiß wurde nicht angegriffen. Eine Kulturflüssigkeit, in der die Bazillen 3 Tage gewachsen waren, zeigte deutliche Spaltung von Edestin-, Gelatine- und Seidenpepton; nach 5tägigem Wachstum war das Resultat in bezug auf das Edestin- und Gelatinepepton das gleiche, Seiden-, Casein- und Eieralbuminpepton wurden wenig angegriffen, dagegen ließ sich ein deutlicher Einfluß auf das Eiereiweiß erkennen. Wurde die Kulturflüssigkeit 8, 11, 14 Tage nach erfolgter Einimpfung untersucht, so ergab sich keine Einwirkung auf die angewandten Peptone. Auch das Eiereiweiß wurde nicht angegriffen. Einige Kurven mögen die erhaltenen Resultate belegen.

Beim Streptococcus pleuro-pneumoniae Schütz war das Resultat ein ähnliches. Spaltung beobachteten wir in den ersten Tagen nach erfolgter Impfung. 6 Tage nach der Impfung konnten wir in keinem Falle eine Spaltung nachweisen; 3 Tage später jedoch war wieder eine deutliche Einwirkung auf die angewandten Peptone erkennbar. Bei noch längerer Ausdehnung der Versuche beobachteten wir wiederum ein Verschwinden und ein Wiederauftreten der spaltenden Wirkung der Kulturflüssigkeit.

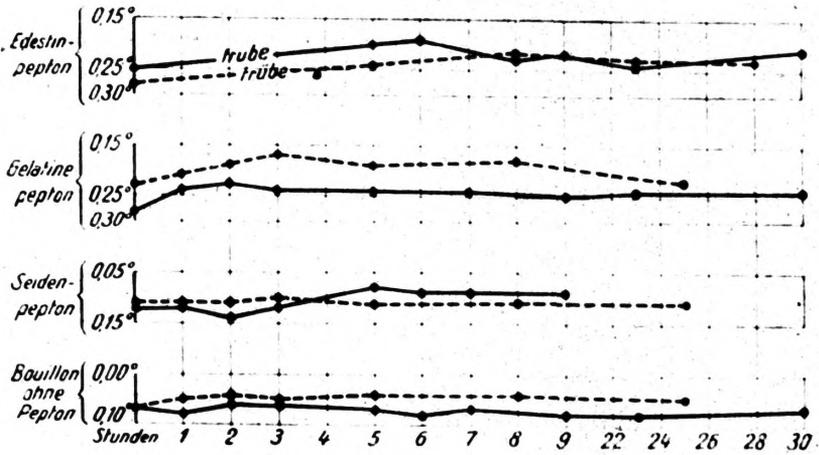
Der Paratyphus B wies ein wesentlich anderes Verhalten als die beiden obengenannten Bakterien auf. Die Kulturflüssigkeit zeigte sich, zu verschiedenen Zeiten nach erfolgter Einimpfung untersucht, gegenüber den angewandten Peptonen fast durchweg indifferent. Nur beim Caseinpepton wurde eine geringfügige Einwirkung beobachtet.

Überblickt man die gefundenen Resultate, dann ergibt sich, daß sich auf dem eingeschlagenen Wege unzweifelhaft ein Einblick in die Stoffwechselforgänge und vor allem in die Fer-

mentabgabe verschiedenartiger Bakterien erhalten läßt. Ebenso geht aus den wenigen Beobachtungen schon hervor, daß verschiedene Bakterien ein verschiedenartiges Verhalten zeigen. Der Abbau der Peptone schien in spezifischer Weise zu erfolgen, doch reichen unsere Versuche noch nicht zu einer endgültigen Schlußfolgerung aus. Einige Kurven mögen die Art der beobachteten Einwirkung auf bestimmte Proteine resp. Peptone erläutern.

Paratyphusähnlicher Bacillus (Hygien. Instit. Tierärztl. Hochschule, Berlin) geimpft auf Bouillon am 25. IV.

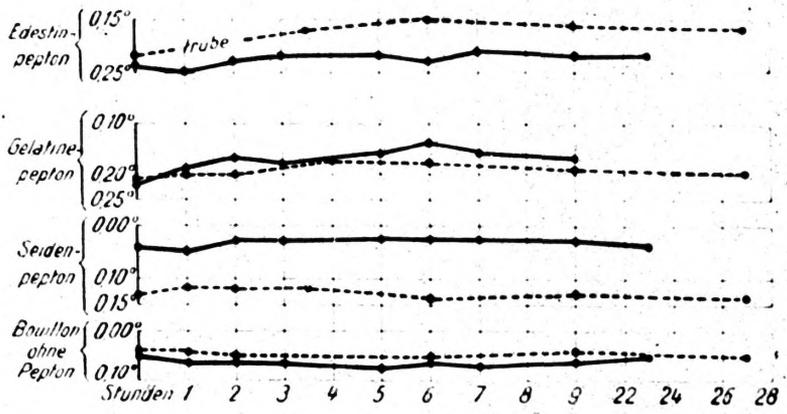
Am { 28. IV. ——— geprüft auf folgende Peptone ($\frac{1}{2}$ ccm Pepton, $1\frac{1}{2}$ ccm
30. IV. Bouillon, 2 ccm physiologische Kochsalzlösung):



Dieselbe Kultur geprüft am 3. und 6. V. ergab keinerlei Drehungsänderung.

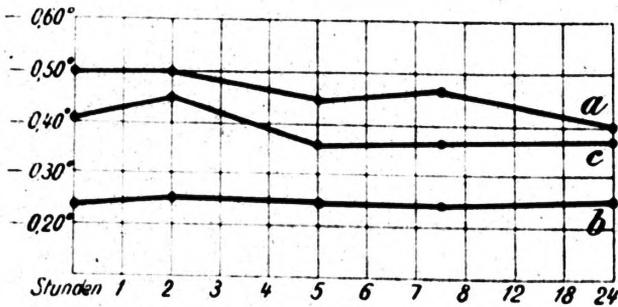
Streptococcus pleuro-pneumoniae Schütz, geimpft auf Bouillon am 28. IV.

Am { 2. V. ——— geprüft auf folgende Peptone ($\frac{1}{2}$ ccm Pepton, $1\frac{1}{2}$ ccm
4. V. Bouillon, 2 ccm physiologische Kochsalzlösung):

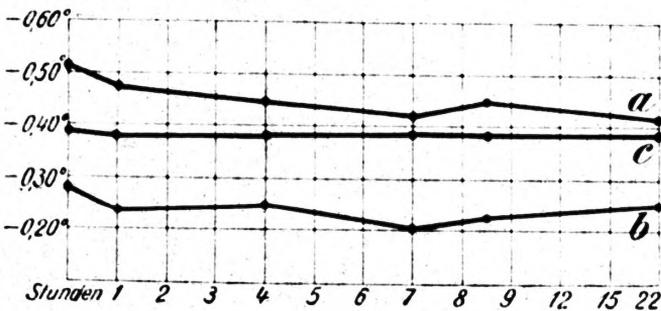


Dieselbe Kultur an denselben Peptonen geprüft am 4., 9., 20., 25. V. ergab keinerlei Drehungsänderung.

- a) 1,5 ccm Kultur Pneumococcus pneumon. Schütz,
 0,5 » 5%ige Caseinpeptonlösung,
 5,0 » Kochsalzlösung.
- b) 1,5 ccm Kultur Pneumococcus pneumon. Schütz,
 0,5 » 5%ige Eialbuminpeptonlösung,
 5,0 » Kochsalzlösung.
- c) 1,5 ccm Kultur Pneumococcus,
 0,5 » 5%ige Eiereiweißlösung,
 5,0 » Kochsalzlösung.



- a) 1,5 ccm Kultur Paratyphus,
 0,5 » 5%ige Caseinpeptonlösung,
 5,0 » Kochsalzlösung.
- b) 1,5 ccm Kultur Paratyphus,
 0,5 » 5%ige Eialbuminpeptonlösung,
 5,0 » Kochsalzlösung.
- c) 1,5 ccm Kultur Paratyphus,
 0,5 » 5%ige Eiereiweißlösung,
 5,0 » Kochsalzlösung.



Eine ganz ähnliche Fragestellung hat Wolfgang Weichardt¹⁾ in Angriff genommen. Er verwendete Preßsäfte von Typhus- und Colibazillen. Er hat gleichfalls die optische Methode benützt. Unsere Versuche sind unabhängig von denen

¹⁾ Wolfgang Weichardt, Studien über das Wachstum und den Stoffwechsel von Typhus- und Colibacillus und über die Tätigkeit ihrer Fermente. Zentralblatt f. d. gesamte Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels, N. F., Jg. V, S. 131, 1910.

Weichardts unternommen worden. Sie bilden ein Glied einer Reihe von Fragestellungen, die im hiesigen Institute in Angriff genommen worden sind.

2. Lassen sich bei Verwendung einer bestimmte Substrate enthaltenden Kulturflüssigkeit bei Züchtung verschiedenartiger Bakterien Unterschiede im Abbau der Substrate feststellen?

Zur Entscheidung dieser Frage züchteten wir verschiedene Bakterien auf Bouillon, Bouillon + 1% Seidenpeptonlösung, ferner auf 1%igen Lösungen der aus Seide, Gelatine, Edestin, Eiereiweiß gewonnenen Peptone. Wir bestimmten jedesmal die Anfangsdrehung vor der Impfung und bestimmten dann das Drehungsvermögen nach einiger Zeit wieder. Bei jeder Versuchsreihe wurde das Drehungsvermögen der Kulturflüssigkeit ohne Impfung mit verfolgt. Die erhaltenen Resultate ergeben sich aus der untenstehenden Übersicht.

Versuche über die Änderung der Drehung von Bouillon und Peptonlösungen durch wachsende Bakterien.

Nährboden	Bakterienart (1 Tropfen)	10 cm-Rohr		
		Anfangs- drehung	Drehung nach 36 Std.	Drehung nach 72 Std.
Bouillon	ohne	— 0,38°	— 0,40°	— 0,40°
„	Paratyphus (hyg. Inst. Tierärztl. Hochsch.)	— 0,38	— 0,58	—
„	Fringillarum	— 0,38	— 0,50	—
Bouillon + 1% Seidenpepton	ohne	— 0,33	— 0,33	— 0,34
desgl.	Ba. equisepticus	— 0,33	— 0,42	— 0,44
„	Streptococcus pleuropneum. Schütz	— 0,33	— 0,42	—
„	paratyphusähnlicher B.	— 0,33	— 0,48	—
Seidenpepton- lösung 1%	allein	+ 0,07	+ 0,06	+ 0,06
desgl.	Paratyphus	+ 0,07	— 0,02	— 0,08
„	Fringillarum	+ 0,07	+ 0,06	— 0,06

Änderung der Drehung von 1%igen Peptonlösungen durch wachsende Bakterien.

Peptonlösungen mit 1 Tropfen der Kultur geimpft, nach 6tägigem Aufenthalt im Brutschrank Drehung bestimmt.

Bestimmung im 5 cm-Rohr.

Pepton	Proteus	Subtilis	Pyocyaneus	Flexner	Streptoc. pyog.	B. coli	Kontrolle ohne
Gelatine	- 0,12	- 0,14	- 0,14	- 0,16	- 0,17	- 0,17	- 0,16
Seide	+ 0,01	- 0,04	- 0,08	+ 0,01	0,0	- 0,04	0,0
Edestin	- 0,12	- 0,12	- 0,11	- 0,13	- 0,10	- 0,13	- 0,14
Eieralbumin	- 0,14	- 0,14	- 0,12	- 0,05	- 0,09	- 0,12	- 0,15

Die verschiedenen Bakterien zeigten gegenüber den verschiedenen Kulturböden ein verschiedenes Verhalten. Eine Erweiterung der Versuche unter möglichst verschiedenartigen Bedingungen und Anwendung möglichst gut bekannter Substrate als Nährboden wird unzweifelhaft zu noch schärferen Resultaten führen. Wir glauben durch diese vorläufigen Versuche gezeigt zu haben, daß die Verfolgung des Drehungsvermögens der Kulturflüssigkeit selbst, oder aber der bei ihrer Einwirkung auf bestimmte Proteine oder Peptone auftretenden Veränderungen uns ein neues Mittel an die Hand gibt, um die verschiedenartigen Mikroorganismen zu differenzieren.¹⁾

Wir wollen auch hier noch ausdrücklich bemerken, daß wir die Bezeichnungen Fermentwirkung, Spaltung usw. nur als vorläufige betrachten, da ja nicht bestimmt erwiesen ist, daß die beobachteten Drehungsänderungen auf einen Abbau zurückzuführen sind. Sie sind zunächst ja nur ein Hinweis darauf, daß Veränderungen eingetreten sind. Weitere Untersuchungen müssen dann deren Art klar stellen.

¹⁾ Vgl. hierzu auch W. Weichardt, l. c.