

# Zur Chemie der Protamine.

Von  
**A. Kossel.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg.)

## I.

Vor kurzem bot sich die Möglichkeit, die Testikeln von *Crenilabrus pavo* zu untersuchen, welche Herr Professor O. Cohnheim auf der zoologischen Station bei Monte Carlo gesammelt hatte. In diesem Material, für dessen Beschaffung ich Herrn Professor Cohnheim auch an dieser Stelle meinen Dank abstatte, fand sich ein Protamin vor, welches einem bisher weniger bekannten Typus der einfachsten Proteinstoffe angehört und welches als «Crenilabrin» bezeichnet werden mag.

Die im Alkohol aufbewahrten Testikel wurden in der früher beschriebenen Weise mit Schwefelsäure extrahiert und die filtrierte Lösung mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst, mit Natriumpikrat gefällt, das Pikrat des Crenilabrans mit Schwefelsäure und Äther von Pikrinsäure befreit und wiederum in das Sulfat übergeführt.

Das Crenilabransulfat scheidet sich — ebenso wie ich dies früher bei anderen Protaminen beschrieben habe — aus der konzentrierten wässerigen Lösung als Öl ab, auch gibt es in schwach ammoniakalischer Lösung mit einer Lösung von «Witte-Pepton» einen Niederschlag. Die Millonsche Reaktion fiel positiv aus, die Glyoxylsäurereaktion von Hopkins und Cole war negativ.

Eine mit geringer Substanzmenge — 2,5 g des Sulfats — ausgeführte Schwefelsäurespaltung ergab folgendes Resultat.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Bezüglich der Einzelheiten des analytischen Verfahrens sei auf die Mitteilung von F. Weiss, Diese Zeitschr., Bd. LII, S. 107 (1907), verwiesen.

## Stickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffs.

## Argininstickstoff:

- a) Kjeldahl-Bestimmung der Argininfraktion . . . 42,3 %  
 b) Arginin als Pikrolonat gewogen . . . . . 37,6 %

## Lysinstickstoff:

- a) Kjeldahl-Bestimmung der Lysinfraktion . . . 11,0 %  
 b) Lysin als Pikrat gewogen . . . . . 2,9 %

## «Monoamidostickstoff»:

- Kjeldahl-Bestimmung im Filtrat der Lysinfraktion 25,1 %

Unter den Spaltungsprodukten fehlte Ammoniak und Histidin. Der Darstellung des Lysins als Pikrat kommt, da es sich um eine sehr geringe Substanzmenge handelte, keine quantitative Bedeutung zu. Der in der Mutterlauge verbleibende Teil des Lysinpikrats mußte in diesem Falle einen bedeutenden Fehler bedingen. Andererseits dürfte die Kjeldahl-Bestimmung in der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Fraktion einen etwas zu hohen Wert ergeben.

Berechnet man aus obigen Stickstoffwerten die prozentischen Gewichtsmengen des Arginins, so ergibt sich aus der Kjeldahl-Bestimmung 23,7 %, aus der Wägung des Pikrolonats 21,5 % des lufttrockenen Crenilabrinulfats an Arginin. Für das Lysin würde man nach Maßgabe der Kjeldahl-Bestimmung im Phosphorwolframsäureniederschlag 10,3 % Lysin erhalten.

Als Bausteine des Crenilabrin sind somit sicher nachgewiesen: Arginin, Lysin und gewisse Monoamidosäuren, unter denen auf Grund der Millonschen Reaktion Tyrosin anzunehmen ist. Es fehlen die Histidin, Tryptophan und Ammoniak bildende Gruppe. Das Crenilabrin unterscheidet sich von den Protaminen der Salmingruppe (d. h. dem Salmin, Clupein und Scombrin) durch den Gehalt an Tyrosin und an Lysin, sowie durch den höheren Gehalt an den durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren «Monoamidosäuren». Es unterscheidet sich ferner von dem  $\alpha$ -Cyprinin durch den niedrigen Gehalt an Lysin, vom Sturin durch das Fehlen des Histidins und durch die Anwesenheit des Tyrosins, vom Cyclopterin durch das Fehlen der Trypto-

phangruppe. Es hat wohl am meisten Ähnlichkeit mit dem  $\beta$ -Cyprinin, doch ist der Gehalt an Arginin in Crenilabrin ein viel höherer.

Diese Ergebnisse zeigen von neuem die große Mannigfaltigkeit der Protamingruppe, aber man muß auch in diesem Falle, wie bei allen Protaminen, die Möglichkeit zulassen, daß die als Crenilabrin analysierte Substanz nicht einheitlich ist, sondern eine Mischung mehrerer Protamine darstellt. Wäre dies letztere der Fall, so müßte die Fortsetzung dieser Untersuchungen und die Aufteilung der bisher bekannten Protamine uns die Kenntnis noch einfacherer, natürlich vorkommender Kombinationen von Eiweißbausteinen verschaffen. Bis jetzt müssen die Protamine der Salmingruppe als die einfachsten Proteinstoffe betrachtet werden.

## II.

W. D. Malenük hat meine früheren Untersuchungen über das aus dem deutschen Stör gewonnene Sturin fortzusetzen gesucht, indem er eine andere, im kaspischen Meer vorkommende Accipenserart in ähnlicher Weise verarbeitete.<sup>1)</sup> Malenük hat meine Darstellungsweise des Sturins hauptsächlich in folgenden Punkten verändert:

1. Die von mir nach Mieschers Vorgang benutzte Fällung der Spermamasse mit Essigsäure wurde von Malenük nicht im unmittelbaren Anschluß an die übrigen chemischen Manipulationen, sondern zeitlich getrennt von denselben, bereits am Fangorte vorgenommen, die Niederschläge in starken Spiritus übertragen und in solcher Form aus dem Fangort transportiert.

2. Die schwefelsauren Extrakte wurden ohne die von mir angegebene vorhergehende Alkoholfällung (auch ohne vorhergehende Neutralisation) mit Natriumpikrat gefällt.

3. Der Pikratniederschlag wurde in Aceton gelöst, filtriert und aus der Acetonlösung das Protaminsulfat durch Schwefelsäure gefällt.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LVII, S. 99.

Die unter 1. genannte Abänderung des Darstellungsverfahrens mußte den Erfolg haben, daß während des Transportes der mit Essigsäure gefällten und offenbar überschüssiges Fällungsmittel enthaltenden Spermamasse ein beträchtlicher Teil der in den Köpfen enthaltenen Nucleinsäure zersetzt und somit Nucleinbasen abgespalten wurden.

Die unter 2. erwähnte Abänderung meiner Methode mußte dahin wirken, daß die abgespaltenen Nucleinbasen und speziell das Adenin, welche bei meinem Verfahren durch den Alkohol gelöst und fortgeschafft werden, mit in den Pikrinsäureniederschlag hineingelangen. Dies mußte um so mehr der Fall sein, da Malenük die Pikrinsäurefällung bei ziemlich stark saurer Reaktion vornahm, während bei meinen Versuchen der Überschuß der Säure durch den Alkohol entfernt war. Adenin ist aber bei Gegenwart von Säure leicht durch Natriumpikrat fällbar. Die unter 1. und 2. genannten Abänderungen, welche Malenük meinem Verfahren hat zuteil werden lassen, mußten somit eine Verunreinigung seines Präparats mit Adenin bewirken.

Malenük findet nun, wie hiernach zu erwarten war, in der Tat eine Beimischung von Adenin, setzt aber merkwürdigerweise voraus, daß auch meine Präparate mit Adenin verunreinigt gewesen sind. Durch diese Fiktion erklärt er die Tatsache, daß das von mir untersuchte Präparat des deutschen Störs einen höheren Stickstoffgehalt gezeigt hat, als das von ihm dargestellte einer anderen Spezies. Herr Malenük erhebt also gegen mich den Vorwurf, daß ich das von mir entdeckte und genau beschriebene Adenin bei der Darstellung des Sturins und bei der Untersuchung seiner Spaltungsprodukte übersehen habe — und zwar in einer Menge, die etwa 10 % des Sturins betragen müßte! Ich kann diese Meinung des Herrn Malenük auf sich beruhen lassen. Das von mir dargestellte Sturin enthielt keine nachweisbaren Spuren von Adenin, ebensowenig anorganische Verunreinigungen.

Herr Malenük hat ferner bei der von mir angegebenen Darstellungsmethode Schwierigkeiten gefunden, als er versuchte, das Protaminpikrat in das Sulfat überzuführen. Ich muß aus seiner Beschreibung schließen, daß er das Sturinpikrat in einen

Schütteltrichter gebracht und die klebrigen, der Wandung anhaftenden Massen mit Schwefelsäure und Äther zu zersetzen versucht hat. Wenn man in dieser Weise verfährt, geht die Umsetzung allerdings sehr schwierig und langsam vor sich. Schnell gelangt man aber zum Ziel, wenn man das Protaminpikrat mit 20%iger Schwefelsäure in einer Reibschale durchknetet und die so erhaltene feine Aufschwemmung der Ätherextraktion unterwirft. Ich habe es für überflüssig gehalten, diese von mir benutzte Manipulation in den früheren Mitteilungen genauer zu beschreiben. Fachgenossen, welche in derartigen Untersuchungen einige Erfahrung haben, werden sie als selbstverständlich betrachten.

---