

# Über das Vorkommen von Nucleinsäure in reifen Heringseiern.

Von

**Helene Tschernorutzky.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität in Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 3. Juli 1912.)

Die Frage nach dem Vorkommen von Nucleinsäuren in den reifen Eiern ist fast so alt wie die Kenntnis von der echten Nucleinsäure überhaupt und bei der großen theoretischen Bedeutung für die Chemie der Zelle einerseits, der Befruchtung andererseits ist es zu bedauern, daß bisher keine absolute Einstimmigkeit in der Beantwortung der Frage herrscht.

Durch die Arbeiten A. Kossels und seiner Schüler<sup>1)</sup> war festgestellt, daß in reifen unbebrüteten Hühner-, Insekten- und Karpfeneiern höchstens Spuren von Nucleinbasen nach der Hydrolyse mit Säuren zu finden waren. Mit der Entwicklung der Embryonen hielt dann auch die Zunahme der Nucleinbasen gleichen Schritt, sodaß es zweifellos war, daß im wachsenden Embryo eine Synthese von Nucleinbasen und weiterhin von Nucleinstoffen stattfand, eine Ansicht, die 21 Jahre später auch von J. Loeb<sup>2)</sup> wieder geäußert worden ist.

Ebensowenig wie A. Kossel und seine Schüler haben auch Hugounenq<sup>3)</sup> und Linnert<sup>4)</sup> Nucleinbasen in Fischeiern (Heringsrogen und Caviar) auffinden können.

Dagegen haben Plimmer und Scott<sup>5)</sup> mit Hilfe einer indirekten Methode (einer Bestimmung der einzelnen Phosphor-

<sup>1)</sup> A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 248.

Tichomirow, Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 518.

Walter, Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 477.

<sup>2)</sup> J. Loeb, Dynamik der Lebenserscheinungen, Leipzig 1906, S. 100.

<sup>3)</sup> Comptes rendus, Bd. 138, S. 1062.

<sup>4)</sup> Bioch. Zeitschr., Bd. 18, S. 209.

<sup>5)</sup> Journ. of Physiol., Bd. 38, S. 247.

verbindungen der Eier) geschlossen, daß im Caviar und im Hühnerei geringe Mengen von Nucleinstoffen vorkämen.

Ferner haben Levene und Mandel<sup>1)</sup> aus den unbebrüteten Eiern vom Schellfisch (*Gadus aeglefinus*) eine Nucleinsäure darstellen können, die bei der Säurespaltung Guanin, Adenin, Uracil und Cytosin, aber kein Thymin lieferte. Da sie ca. 80 g Substanz (teils freie Säure, teils deren Kupfersalz) analysiert haben, so muß die Menge der Nucleinsäure in den Eiern keine ganz unbeträchtliche gewesen sein.

Endlich hat E. Masing<sup>2)</sup> das Verhalten der Nucleinsäure im unbebrüteten und im gefurchten Seeigeli quantitativ untersucht und ist zu dem Schluß gekommen, daß das ungefurchte Seeigeli bereits eine relativ bedeutende Menge Nucleinsäure enthält. Bei einer Vermehrung der Kernmasse (des befruchteten Eies bei der Furchung) annähernd um das 100fache hat er kein Ansteigen des Nucleinsäuregehaltes konstatieren können.

Sollten sich die Angaben der zuletzt genannten Forscher bestätigen, so wären in der Tat unsere Ansichten über die Synthese von Nucleinstoffen im wachsenden Embryo revisionsbedürftig. Da mir nun eine größere Menge von reifen, unbefruchteten Heringseiern zur Verfügung stand, habe ich auf Veranlassung von Herrn Professor H. Steudel versucht, einen Beitrag zur Lösung der Frage zu liefern.

Es war eine größere Menge frischer, reifer Heringsrogen durch ein Sieb gedrückt, um die Eier von den geringen Mengen anhaftenden Bindegewebes zu befreien, dann dreimal mit 96%igem Alkohol und dreimal mit Äther ausgekocht. Es resultierte ein weißgraues grobkörniges Pulver, das im Durchschnitt 1,06% P und 10,97% N enthielt.

0,1804 g	sättigen	14,0 ccm <sup>n</sup> / <sub>10</sub> -Oxalsäure	=	10,88%N	(Kjeldahl)
0,1617 g	»	12,7 » » »	=	10,99%N	»
0,1625 g	»	12,8 » » »	=	11,04%N	»
0,1622 g	»	3,9 » <sup>n</sup> / <sub>2</sub> -NaOH	=	1,33%P	(Neumann)
0,1694 g	»	3,0 » » »	=	0,98%P	»
0,2000 g	»	3,1 » » »	=	0,86%P	»

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 49, S. 262.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 67, S. 161.

100 g dieser mit Alkohol und Äther extrahierten Eier wurden mit einer Mischung von 150 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 600 ccm Wasser 14 Stunden lang im Ölbad gekocht. Nach dieser Zeit hatte sich fast alles zu einer dunkelbraunen Flüssigkeit gelöst; es blieb nur eine geringe Menge (wohl die Eihäute) ungelöst, von der abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde auf 1000 ccm gebracht und enthielt 10,92 g N (verlangt 10,97 g N). 5 ccm sättigen 38,9 ccm  $n_{/10}$ -Säure = 0,0546 g N (Kjeldahl).

Der unlösliche Rückstand, dessen Gewicht trocken 1 g betrug, enthielt 3,4% N.

0,1568 g sättigen 3,8 ccm  $n_{/10}$ -Säure = 3,39% N (Kjeldahl).

0,1552 g     >     3,8     >     >     >     = 3,43% N     >

Über die Natur dieses Stickstoffs habe ich weiter keine Untersuchungen angestellt, die Substanz gab keine Murexidprobe und hat jedenfalls keine Nucleinbasen mehr enthalten.

Das Filtrat wurde nunmehr mit Ammoniak übersättigt; es blieb hierbei vollkommen klar. Es wurde dann mit ammoniakalischer Silbernitratlösung vollkommen ausgefällt. Der dunkelbraune spärliche Niederschlag, der sich abschied, wurde nach mehrtägigem Stehen von der Flüssigkeit getrennt, mit Salzsäure in der Wärme zersetzt, vom Chlorsilber abfiltriert und noch einmal in ammoniakalischer Lösung mit ammoniakalischer Silbernitratlösung gefällt. Nunmehr fiel der Niederschlag mit grauweißlicher Farbe aus; er wurde mit ammoniakhaltigem Wasser salpetersäurefrei gewaschen, dann gut abgesaugt und dreimal mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Die letzten Waschwässer reagierten schon vollkommen neutral, sodaß also auch das Ammoniak wohl bis auf geringe Spuren aus dem Silberniederschlag entfernt war. Jetzt wurde der Silberniederschlag wieder mit Salzsäure in der Wärme zersetzt, vom Chlorsilber abgetrennt und das Filtrat auf 100 ccm gebracht. Es enthielt 0,1032 g Stickstoff.

5 ccm sättigen 3,7 ccm  $n_{/10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0,00519 g N (Kjeldahl).

10 ccm     >     7,3 ccm     >     >     >     = 0,01025 g N     >

Bei der geringen Menge stickstoffhaltiger Substanz erschien eine weitere Verarbeitung nicht angebracht, es wurde

nur noch konstatiert, daß die Flüssigkeit (wenige Kubikzentimeter) ausgesprochene Murexidreaktion gab.

Nimmt man als mittleren Stickstoffgehalt der Basen 44,1% an (Guanin 46,4, Adenin 51,9, Xanthin 36,8, Hypoxanthin 41,2% N) und rechnet sämtlichen Stickstoff des Silberniederschlages auf Basen um, so erhält man eine Menge von 0,234 g. Unter Zugrundelegung der Steudelschen Nucleinsäureformel<sup>1)</sup>  $C_{43}H_{61}N_{15}P_4O_{34}$  würde das einer Nucleinsäuremenge von 1,19 g<sup>2)</sup> entsprechen.

Es hätten also nach meiner Bestimmung 100 g trockene, mit Alkohol und Äther extrahierte reife, unbefruchtete Heringsei einen Gehalt von ungefähr 1,2 g Nucleinsäure gehabt — das ist natürlich eine sehr geringe Menge und es würden vollkommen die eingangs erwähnten Befunde Kossels hiermit eine Bestätigung finden. Aus dem Phosphorgehalt der mit Alkohol und Äther extrahierten Heringseiern Rückschlüsse auf den Nucleinsäuregehalt zu machen, ist nach meinen Resultaten nicht zulässig. Denn aus dem Phosphorgehalt (1,06% P) berechnet sich ein Nucleinsäuregehalt von 12,44%, also ca. 10mal soviel, wie sich aus der Menge der Nucleinbasen ergibt. Über die Natur dieses Phosphors kann ich nichts weiter aussagen, man kann daran denken, daß es sich um nicht extrahierte Reste von Phosphatiden handelt; möglicherweise handelt es sich aber auch um ein dem Casein resp. dem Ovovitellin entsprechendes Paranuclein.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 77, S. 504.

<sup>2)</sup> Die Berechnung gilt natürlich nur unter der Voraussetzung, daß die ganze Menge der gefundenen Nucleinbasen in der Nucleinsäure gebunden ist, und daß die Nucleinsäure vollkommen der echten Nucleinsäure entspricht.

---