

# Die Chemotaxis von Bakterien gegen optisch-aktive Aminosäuren.

Von

Hans und Ernst G. Pringsheim.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin und dem hygienischen Institut der Universität Halle, Stellvertretender Direktor: Dr. W. Schürmann.)

(Der Redaktion zugegangen am 31. März 1916.)

Die optisch-aktiven  $\alpha$ -Aminosäuren und ihre Derivate kommen in der Natur immer nur in Form ein und derselben Komponente vor, welchen Ursprungs sie auch immer sein mögen. Ausnahmen von dieser Regel haben der Nachprüfung nicht zu widerstehen vermocht: so wurde für das vermutliche Vorkommen von Rechts-Asparagin in Wickenkeimlingen bewiesen, daß es bei der Extraktion aus dem natürlichen l-Asparagin entstanden war,<sup>1)</sup> und auch das Ratanhin hat sich schließlich mit dem aus dem natürlichen Tyrosin hergestellten l-N-Methyltyrosin identisch erwiesen.<sup>2)</sup> Diese Gesetzmäßigkeit<sup>3)</sup> spiegelt sich im physiologischen Verhalten der beiden  $\alpha$ -Aminosäurekomponenten. Im allgemeinen wird die natürliche Komponente, wenn man sie Schimmelpilzen als Stickstoffquelle bietet, stärker assimiliert als ihr Antipode.<sup>4)</sup> Jedoch sind auch Fälle beobachtet worden, wo keine derartige Auslese stattfand.<sup>4)</sup> Weit spezifischer wirkt die Hefe, welche bei der alkoholischen Gärung die natürliche Komponente zuerst angreift,<sup>5)</sup> dann bei Mangel an dieser das Antilogen zu zerlegen beginnt,<sup>5)</sup> bis auch dieses schließlich ganz aufgebraucht werden kann.<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup> H. Pringsheim, Diese Zeitschr., Bd. 65, S. 89 (1910).

<sup>2)</sup> E. Fischer und W. Lipschitz, Ber., Bd. 48, S. 360 (1915).

<sup>3)</sup> Sie umfaßt übrigens nicht das Gesamtgebiet der Naturprodukte; in der Zuckerreihe sind beide Komponenten ein und desselben Zuckers als Naturprodukte aufgefunden worden. So ward die d-Arabinose im Aloin aus Barbados-Aloe entdeckt, während inaktive Arabinose, Galaktose und Ribose natürlichen Ursprungs beobachtet wurden. Auch Milchsäure findet sich in beiden optisch-aktiven Formen als Naturprodukt, die Äpfelsäure als racemische Verbindung.

<sup>4)</sup> Literatur bei H. Pringsheim, Diese Zeitschr., Bd. 65, S. 96 (1910).

<sup>5)</sup> F. Ehrlich, Biochem. Zeitschr., Bd. 1, S. 7 (1906).

<sup>6)</sup> H. Pringsheim, Biochem. Zeitschr., Bd. 3, S. 244 (1907).

Noch weit schärfer tritt der optische Unterschied zutage, wenn Aminosäuren aus Polypeptiden durch Fermente abgespalten werden. Bei der weitaus größten Zahl der untersuchten Fälle werden überhaupt nur Polypeptidketten gespalten, die sich aus den natürlichen Komponenten der Aminosäuren zusammensetzen. Die einzige bisher bekannte Ausnahme von dieser Regel findet sich im Verhalten der Fermente einiger Schimmelpilze, die auch unnatürliche Polypeptide zu spalten vermögen.<sup>1)</sup>

Uns interessierte das Verhalten beweglicher Bakterien gegenüber optisch-aktiven Substanzen, die Frage, ob die taktische Anlockung durch die sterische Lage der Atome im Molekül beeinflußt wird oder nicht. Dieses Problem ist mit dem der bevorzugten Aufnahme als Nahrungsstoff keineswegs identisch, denn es gibt Stoffe, die für die Ernährung nicht in Frage kommen, ja die in höheren Konzentrationen als starke Gifte wirken wie Äther, und die doch positiv-chemotaktisch wirken können. Weit eher ließe sich die chemische lokomotorische Reizbarkeit mit der der Geschmacksnerven vergleichen, die auf verschiedene Komponenten derselben Verbindung verschiedenartig reagieren können.<sup>2)</sup> Derartige Geschmacksdifferenzen sind grade bei Aminosäuren in zahlreichen Fällen beobachtet worden.<sup>2)</sup> Das gilt auch für zwei der in den Kreis unserer Untersuchung gezogenen: d-Leucin schmeckt ausgesprochen süß, l-Leucin fade und schwach bitter, d-Phenylalanin schmeckt stark süß, l-Phenylalanin leicht bitter.

Nun dürfte sich kaum auf irgend einem Gebiete der Biochemie die Bedeutung des molekularen Baues der wirksamen Substanzen so unmittelbar zeigen wie auf dem der chemischen Reizbarkeit. Innerhalb dieses Gebietes wiederum ruht die Erforschung der Chemotaxis frei beweglicher Organismen auf der sichersten experimentellen und theoretischen Grundlage. Es war deshalb verlockend, die Verschiedenheiten

---

<sup>1)</sup> E. Abderhalden und H. Pringsheim, Diese Zeitschr., Bd. 59, S. 249 (1909).

<sup>2)</sup> Ausführliche Literatur bei Georg Cohn. Geschmack und Konstitution bei organischen Verbindungen, Ferdinand Enke, Stuttgart 1915, S. 14.

in der sterischen Anordnung der Atome, die die Komponenten optisch-aktiver Stoffe unterscheiden, in ihrem Einfluß auf die chemotaktische Wirksamkeit zu studieren. Für diesen Zweck kamen vor allen anderen Organismen die Bakterien in Betracht, die sich am leichtesten rein kultivieren und in einem indifferenten Medium untersuchen lassen.

Die genaue Erforschung der Chemotaxis einiger Organismen macht es begreiflich, daß man dabei auch schon auf einige physikalisch-chemische Fragen stieß, die eine gewisse Verwandtschaft mit der unsrigen aufweisen. Schon in seiner ersten Arbeit entdeckte Pfeffer die Unwirksamkeit des Apfelsäurediäthylesters gegenüber Farnsamenfäden, die durch andere Verbindungen der Apfelsäure angelockt werden. Dieser Fall wurde dann von Ostwald auf Grund der Dissoziationsverhältnisse erklärt und die Wirkung den Malationen zugeschrieben. Unserem Problem noch verwandter ist der gleichfalls von Pfeffer herrührende Nachweis, daß Maleinsäure chemotaktisch wirkt, die stereoisomere Fumarsäure aber nicht. Später hat besonders Shibata<sup>1)</sup> die Bedeutung des molekularen Aufbaues der organischen Säuren für die Chemotaxis der Pteridophyten-Spermatozoen aufgeklärt. Er hat auch die Chemotaxis der Samenfäden von Isoëtes gegenüber Trauben- und d-Weinsäure geprüft und keinen Unterschied gefunden, woraus er schließt, daß «die die optische Isomerie bedingende Raumanordnung der Atome keine Bedeutung für die chemotaktische Wirkung» habe.<sup>2)</sup> Dieser Schluß kann aber wenigstens aus den von ihm mitgeteilten Versuchen nicht gezogen werden. Denn nimmt man selbst gänzliche Unwirksamkeit der nicht geprüften l-Weinsäure an, so könnte die Schwelle der Traubensäure doch nur auf die doppelte Konzentration gegenüber der d-Weinsäure verschoben sein. Der Verfasser hat aber bei den Schwellenbestimmungen<sup>3)</sup> nur mit dezimalen Abstufungen gearbeitet. Vergleicht man die An-

<sup>1)</sup> K. Shibata, Untersuchungen über die Chemotaxis der Pteridophyten-Spermatozoiden. Jahrb. f. wissensch. Botan., Bd. 49, S. 1, 1911.

<sup>2)</sup> a. a. O., S. 13.

<sup>3)</sup> a. a. O., S. 8.

gaben für  $1/100$  Mol, so scheint sich sogar eine größere Wirksamkeit der d-Weinsäure, also der natürlichen Komponente, zu ergeben.

Auch Fritz Müller<sup>1)</sup> hat eine Anzahl bedeutungsvoller Beziehungen zwischen chemotaktischer Wirksamkeit und chemotaktischer Konstitution aufgefunden. So erwiesen sich den Saprolegniaschwämmern gegenüber die Amino-iso-butter- und Amino-iso-valeriansäure bedeutend weniger anlockend als die entsprechenden Amino-n-säuren. Auch die Stellung der Amino-gruppe in Säureamiden resp. Aminosäuren war von Bedeutung.<sup>2)</sup> Die Reizschwelle ist nämlich für die Säureamide bedeutend höher als für die Aminosäuren. In den angeführten Arbeiten finden sich noch weitere Beispiele für die Bedeutung des molekularen Aufbaues bei der Chemotaxis.

Bevor wir an unsere Aufgabe herangehen konnten, die Bedeutung des optischen Drehungsvermögens der Aminosäuren für die Chemotaxis der Bakterien festzustellen, mußten erhebliche experimentelle Schwierigkeiten überwunden werden, die eine breitere Erforschung der chemotaktischen Wirkung organischer Stoffe bei Bakterien nötig machten. Die betreffenden Ergebnisse sollen an anderer Stelle veröffentlicht werden. Hier wollen wir nur das zum Verständnis der Versuche mit optisch-aktiven Stoffen methodisch Notwendige darlegen.

Nach der von Pfeffer<sup>3)</sup> herrührenden Versuchsanordnung wird die chemotaktische Anlockung dadurch erzielt, daß ein feines Glasröhrchen mit der zu prüfenden Lösung gefüllt und in den Tropfen geschoben wird, der die gut beweglichen Organismen enthält. Ist die Substanz wirksam, so sammeln sich bald zahlreiche Individuen vor der Öffnung, ein Vorgang, der auch mit schwacher Vergrößerung oder selbst mit bloßem Auge beobachtet werden kann. Übt die Flüssigkeit durch zu hohe Konzentration, saure oder basische Reaktion und der-

<sup>1)</sup> Fritz Müller, Untersuchungen über die chemotaktische Reizbarkeit der Zoosporen von Chytridiazeeen und Saprolegniazeeen. Jahrb. für wissensch. Botanik, Bd. 49, 1911, Diss. Leipzig.

<sup>2)</sup> a. a. O., Diss., S. 39—41.

<sup>3)</sup> W. Pfeffer, Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Untersuch. aus d. Botan. Inst. zu Tübingen, Bd. I, 1884.

gleichen neben der anlockenden auch eine abstoßende Wirkung aus, so macht sich eine Ringbildung bemerkbar, weil die Organismen sich in einer bestimmten Diffusionszone ansammeln. Bei guter Chemotaxis aber dringen sie schließlich in Massen in die Kapillare ein. Wird die Konzentration des anlockenden Stoffes herabgesetzt, so wird die Ansammlung zuletzt immer schwächer und verliert sich schnell wieder. Die äußerste Grenze, bei der gerade noch eine schwache Anlockung erkennbar ist, nennt man die «Konzentrationsschwelle». Sie ist von der Art des Organismus und des Stoffes sowie von anderen Bedingungen abhängig, kann aber für einen jeden bestimmten Fall mit einer gewissen Sicherheit ermittelt werden.

Besondere Verhältnisse ergeben sich, wenn sich die Versuchsorganismen nicht in Wasser oder einer indifferenten Flüssigkeit befinden, sondern in einer Lösung, die den chemotaktisch wirksamen Stoff gleichfalls enthält. Dann muß die Kapillarenflüssigkeit diesen Stoff in einem gewissen Konzentrationsüberschuß enthalten, um wirksam zu sein, und zwar fand Pfeffer innerhalb weiter Grenzen hierfür das Webersche Gesetz gültig. Es besagt für unsern Fall, daß in der Kapillare ein bestimmtes und in weiten Grenzen gleichbleibendes Vielfaches der Konzentration der Außenlösung vorhanden sein muß, um gerade noch Chemotaxis zu bewirken. Wir haben also eine konstante «Verhältnisschwelle». Befindet sich in der Außenflüssigkeit nicht dieselbe, sondern eine andere an sich gleichfalls chemotaktisch wirksame chemische Verbindung in entsprechender Konzentration, so sind verschiedene Fälle möglich. Entweder die Chemotaxis ist ganz aufgehoben; dann vermag der Organismus die beiden Substanzen nicht zu unterscheiden, so wie uns Zucker, Glycerin und Saccharin gleichmäßig süß schmecken. Das gilt hauptsächlich für chemisch einander nahestehende Verbindungen. Oder die Ansammlung erfolgt ungestört; dann dürfen wir auf eine verschiedene Sensibilität den beiden Substanzen gegenüber schließen, so wie wir Zucker und Salz durch den Geschmack unterscheiden. Oder schließlich, es findet eine Verminderung der Anlockung statt, wobei chemotaktische und abschwächende Wirksamkeit ein-

ander nicht mehr wie im ersten Falle entsprechen. Auf diesen Fall, der verschiedene, verwickeltere Gründe haben kann, brauchen wir hier nicht näher einzugehen.

Für die Ausführung der Untersuchungen ergibt sich aus dem Gesagten die Forderung, daß die auf ihre Chemotaxis zu prüfenden Organismen nicht in einer Kulturflüssigkeit untersucht werden dürfen, deren Gehalt, besonders an organischen Stoffen, um die es sich bei uns handelt, nicht übersehbar ist. Würden wir z. B., wie das sonst üblich ist, um gut bewegliche Bakterien zu erzielen, in Bouillon, Erbsenwasser oder dergl. kultivieren, so könnte in ihnen ein unbekanntes Gemisch von Aminosäuren vorhanden sein oder aus diesen Substraten durch die Entwicklung der Spaltpilze Aminosäuren abgespalten werden, deren chemotaktische Wirkung dadurch aufgehoben werden würde.

Wir waren deshalb gezwungen, die Bakterien auf festem Substrat zu züchten und für den Versuch in eine indifferente Flüssigkeit zu übertragen. Hierfür wurde physiologische Kochsalzlösung verwendet. Unter solchen Umständen verlieren, wie das schon bekannt ist,<sup>1)</sup> die meisten Bakterien ihre Schwärmfähigkeit mehr oder weniger. Als am besten geeignet erwiesen sich uns die Vibrionen, von denen besonders der «Komma-bacillus» *Vibrio cholerae* und der Erreger einer Geflügelseuche *Vibrio Metschnikoff* gute Versuchsorganismen abgaben. Aber auch unter den im Wasser überall vorhandenen Vibrionen, die man durch Anreicherung in 1%iger Peptonlösung gewinnen kann, wurden brauchbare Stämme gefunden. Einen von uns benutzten wollen wir in der Folge als «Wasservibrio» bezeichnen. Schließlich wurden noch einige Versuche mit einem durch Plattenguß aus Jauche isolierten sehr beweglichen Stäbchen gemacht.

Die Kultur geschah in der Weise, daß die Bakterien auf gewöhnlichem Bouillon-Pepton-Nähragar im Reagenzglas fortgezüchtet und von da jeden Tag frisch auf einen Spezialnährboden in Petri-Schalen ausgestrichen wurden. Hierfür diente

---

<sup>1)</sup> Vgl. z. B. H. Kniep, Untersuchungen über die Chemotaxis von Bakterien. Jahrb. f. wissenschaftl. Botan., 1906, Bd. 43, S. 220.

der von C. Lange<sup>1)</sup> angegebene alkalische Reisstärkeagar, der nicht nur ein besonders ergiebiges Wachstum, sondern, wie wir fanden, auch eine besonders gute Beweglichkeit gewährleistet. Es ist darin einer ganzen Reihe anderer Nährböden überlegen. Die Beweglichkeit nahm zuweilen ohne erkennbare Gründe ab. Eine vorübergehende Züchtung in Peptonwasser brachte sie dann bald wieder auf die alte Höhe. Ferner erwies es sich für die Beweglichkeit als günstig, nicht die an sich für das Wachstum viel förderlichere Temperatur von 37°, sondern eine solche von 22° zu wählen. Nach zwei Tagen waren dann die Kulturen für die Versuche reif.

Die Lösungen wurden ohne Erhitzung hergestellt, um einer Razemisierung vorzubeugen, und konnten einige Zeit im Eisschrank aufbewahrt werden. Erst bereiteten wir prozentische, später molekulare Lösungen, und zwar immer zunächst eine konzentriertere Stammlösung und dann von dieser dezimale Verdünnungen. Alle enthielten gleichzeitig 0,85% NaCl. Zum Versuche wurde etwas davon in Blockschälchen abgegossen und die Glasröhrchen durch einfaches Eintauchen eines Endes vermöge der Kapillarität gefüllt. Das unbenutzte Ende wurde in den auf dem Objektträger befindlichen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung geschoben, in dem vorher durch Einreiben mit der Nadelspitze die geeignete Bakterienmenge verteilt und der mit einem einseitig unterstützten Deckglase versehen worden war. Gleich darauf begann die Beobachtung.

Aus dem oben Gesagten ergibt sich als einfachster Weg, die chemotaktische Wirkung zweier optischer Isomeren quantitativ zu vergleichen, der, daß man die unterste, eben noch anlockende Konzentration bestimmt. Es wurden dezimale Abstufungen verwendet, da geringere Konzentrationsunterschiede die Entscheidung unnötig erschweren und für unsern Zweck sich als nicht nötig erwiesen.

So ergab sich für Choleravibrionen, daß eine 0,5 %ige Lösung von l-Leucin eine starke, schnell erfolgende Ansamm-

<sup>1)</sup> Carl Lange, Eine neuer Nährboden für die Cholera-Diagnose. Deutsche medicin. Wochenschrift 1915, Jahrg. 41, Nr. 38, S. 1119. 6 Teile Nähr-Agar mit 40 ccm 10 % iger Sodalösung auf 1000 ccm Agar + 1 Teil 5 % igen Reisstärkekleister, der  $\frac{1}{2}$  Stunde im Autoklaven bei 120° erhitzt worden ist, heiß gemischt.

lung vor der Kapillarenöffnung bewirkte. Eine 0,05 %ige Lösung erzeugte gleichfalls gute Chemotaxis und starkes Eindringen. Eine 0,005 %ige Lösung hatte keine Wirkung. Die Konzentrationsschwelle für l-Leucin liegt also zwischen 0,005 und 0,05 %. Im Gegensatz dazu konnte bei d-Leucin nicht einmal mit einer 0,5 %igen Lösung Chemotaxis erzielt werden. Somit hat die natürlich vorkommende Komponente eine mehr als zehnmal so starke Wirkung als ihr Antipode, möglicherweise aber auch eine 100fache oder noch stärkeré. Das racemische Leucin wirkt ganz in Übereinstimmung damit erst bei 0,5 % sicher chemotaktisch. Bei 0,05 %, also einem Gehalt von 0,025 % l-Leucin, ist die Ansammlung höchstens ganz schwach. Hier liegt offenbar gerade die Schwelle.

Vibrio Metschnikoff reagierte gleichfalls noch auf 0,05 % l-Leucin, sodaß hier ganz dieselben Verhältnisse vorliegen. Später zeigte sich, daß selbst eine  $\frac{1}{1000}$  molekulare Lösung von l-Leucin anlockend wirkte; das entspricht einer 0,013 %igen Verdünnung, d. h. l-Leucin ist mindestens 40 mal so wirksam als d-Leucin.

Der Wasservibrio wurde sogar durch eine 0,005 %ige l-Leucin-Lösung noch angelockt, daher natürlich auch durch die fast dreimal so starke  $\frac{1}{1000}$  M-Lösung, nicht aber durch eine  $\frac{1}{10000}$  M-Lösung. d-Leucin war hier in der höchsten verwendeten Konzentration, nämlich der 0,5 %igen auch wirksam, dagegen nicht in der 0,05 %igen, auch nicht in der  $\frac{1}{10}$  M-Lösung, die 0,13 % enthielt. Daraus berechnet sich die Wirkung des l-Leucins als etwa 100 mal so stark als die des d-Leucins. Hierbei muß noch in Berücksichtigung gezogen werden, daß die optische Reinheit der Aminosäuren auch dann nicht vollkommen zu sein braucht, wenn sie durch die mit gewissen Fehlerquellen behaftete Drehungsbestimmung festgestellt wird. Wahrscheinlich ist die chemotaktische Anlockung eine viel schärfere Prüfungsmethode auf die An- oder Abwesenheit der natürlichen Komponente einer taktisch wirksamen Substanz, als die uns bisher allein zur Verfügung stehende Drehungsbestimmung. Gerade diese Beobachtung kann methodisch noch



bedeutungsvoll werden, zumal man bei ihr mit außerordentlich geringen Substanzmengen auskommt, die noch weit unter der Grenze der für die Mikropolarisation nötigen liegen können. — Das Jauchebakterium reagierte fast garnicht auf Leucin.

Ganz entsprechend waren die Verhältnisse für Alanin. Hier ist die rechtsdrehende Komponente die natürlich vorkommende, die wiederum ihr optisches Isomeres um das Vielfache an chemotaktischer Wirksamkeit übertraf. Für den Choleravibrio war die 0,001 %ige Lösung von d-Alanin und ebenso die  $\frac{1}{10000}$  M-Lösung (0,00089 %) noch wirksam, die zehnfachen Verdünnungen nicht mehr. Das l-Alanin dagegen lockte erst in 1 % und  $\frac{1}{10}$  M (0,89 %) sicher an, war also nur den 1000sten Teil so wirksam. Beim Vibrio Metschnikoff waren die Schwellen  $\frac{1}{1000}$  M für d-,  $\frac{1}{10}$  M für l-Alanin. Für den Wasservibrio lagen die Grenzwerte entsprechend bei 0,001 und 1 %, also auch hier ein Verhältnis wie 1 : 1000. Das Jauchebakterium endlich reagierte noch schwach auf eine  $\frac{1}{10000}$  M-Lösung von d-Alanin, auf l-Alanin aber erst bei  $\frac{1}{10}$  M, also wieder auf die 1000fache Menge.

Nicht ganz so geeignet wie die genannten Aminosäuren erwies sich das Phenylalanin für unsere Versuche; aber auch hier waren die entsprechenden Unterschiede zu finden. Mit d-Phenylalanin konnte bei keinem der geprüften Bakterien Chemotaxis erzielt werden, obgleich auch gesättigte Lösungen angewendet wurden. Das l-Phenylalanin bewirkte bei dem Cholerabacillus und dem Vibrio Metschnikoff eine Ansammlung in einer  $\frac{1}{200}$  molekularen Lösung, bei dem Wasservibrio in der zehnfachen Konzentration ( $\frac{1}{2}$  M), bei dem Jauchebakterium nicht einmal in einer  $\frac{1}{10}$  M-Lösung.

Aus diesen Versuchen ergibt sich schon klar die beträchtliche Überlegenheit der in der Natur vorkommenden Komponente als Chemotaktikum gegenüber dem nur künstlich herstellbaren Antipoden. Noch anschaulicher wird aber diese Bevorzugung durch die Bakterien mit Hilfe einer anderen Methode, deren Grundlage gleichfalls in der Einleitung dargestellt ist.

Werden nämlich die Bakterien nicht in einer indifferenten Flüssigkeit (physiologische Kochsalzlösung) aufgeschwemmt,

sondern wird ihnen die Wahl zwischen zwei chemotaktisch verschieden wirksamen Lösungen gelassen, so wird sich zeigen müssen, welche von beiden stärker aufgesucht wird. Man wird dabei natürlich die voraussichtlich wirksamere in die Kapillare füllen, die andere zur Aufschwemmung verwenden. Die chemotaktische Reizwirkung aller Aminosäuren, also erst recht die der beiden optischen Komponenten einer von ihnen, beruht, wie sich zeigte, auf ein und derselben Sensibilität der Bakterien. Also kann die Anlockung jeder von ihnen durch das Vorhandensein jeder anderen in der Außenflüssigkeit erschwert oder unterdrückt werden.

Bevor nun Stoffe mit verschiedenem molekularen Aufbau miteinander verglichen wurden, war es nötig, als Grundlage für die weiteren Versuche festzustellen, um wieviel bei ein und derselben Substanz die Konzentration der Kapillarenflüssigkeit die des Kulturtropfens übertreffen mußte, um Chemotaxis zu erzielen. D. h., es mußten einige Verhältnisschwellen bestimmt werden. Die Ergebnisse mit den am besten anlockenden Stoffen geben wir in Tabellenform wieder.

Es bedeutet: # = starke Ansammlung.  
 + = deutliche „  
 +? = schwache „  
 +?? = eben merkliche „  
 0 = keine „

l-Leucin.

	außen		innen	
	%	0,5%	0,05%	0,005%
Vibrio Cholerae	0,05	0		
	0,005	+?	0	
	0,0005	+	+??	0
	0,00005	+	+	0
Wasser-vibrio	0,05	+??		
	0,005	+?	+??	
	0,0005	#	+	0
	0,00005	#	+	0

## d-Alanin.

	außen	innen			
		M/10	M/100	M/1000	M/10000
Vibrio Cholerae	M/1000	+?	0		
	M/10000	+	+?	0	
	M/100000	#	#	+	0
Vibrio Metschnikoff	M/100	0			
	M/1000	#	0		
	M/10000	#	+	0	
Jauche-Bakterium	M/1000	+	0		
	M/10000	#	+	0	
	M/100000	#	#	+	0

## l-Phenylalanin.

	außen	innen			
		M/20	M/100	M/200	M/1000
Vibrio Cholerae	M/2000	0	0		
	M/10000	+	+		
	M/20000	#	+	0	0
	M/100000	#	#	+	+

Aus diesen Zahlen kann man in groben Zügen die Gültigkeit des Weberschen Gesetzes, d. h. die Konstanz der Verhältnisschwelle auch für unsere Substanzen und Organismen entnehmen. Ihre Größenordnung ist etwa 100 : 1. Was für unsere Fragestellung aber wichtiger ist, es geht aus ihnen hervor, daß durch das Vorhandensein der entsprechenden Verbindung in der Außenflüssigkeit die Reizschwelle ganz beträchtlich erhöht wird. Sehen wir daher, daß die Anlockung durch die eine optische Komponente durch das Vorhandensein der anderen in der Bakterienaufschwemmung nicht sehr beeinflußt wird, so dürfen wir auf den geringen chemotaktischen Wert der letzteren schließen.

Die Ergebnisse der Versuche folgen wieder in Tabellen.

d- und l-Leucin.

	außen d-Leucin %	innen l-Leucin		
		0,5%	0,05%	
Vibrio Cholerae	0,5	#		
	0,05	#	+	
Vibrio Metschnikoff		M/10	M/100	
		M/10	+	+?
		M/100	#	+?
		%	0,5%	0,05%
		0,5	+?	
Wasser- vibrio		0,05	+	
		0,005	#	
		%	0,5%	0,05%
		0,5	+?	
		0,05	+	+??
		0,005	#	+
				+?

d- und l-Alanin.

	außen l-Alanin	innen d-Alanin		
		M/10	M/100	M/1000
Vibrio Cholerae	M/10	+?		
	M/100	#	+	
Vibrio Metschnikoff	M/10	+		
	M/100	#	+	
Jauche- Bakterium	M/10	#	+	+??
	M/100		#	+

d- und l-Phenylalanin.

	außen d-Phenylalanin	innen l-Phenylalanin	
		M/20	M/200
Vibrio Cholerae	M/20	0	
	M/200	+?	0

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß (außer beim Phenylalanin) die Anwesenheit der chemotaktisch weniger wirksamen, nur künstlich herstellbaren Komponente in der Außenflüssigkeit die Anlockung durch das optische Isomere weit weniger beeinflußte als die der gleichen Substanz. Es geht das deutlich daraus hervor, daß hier nicht die Verhältnisschwelle 100 : 1 gilt. Vielmehr ist meist noch bei der gleichen Menge Substanz außerhalb und innerhalb der Kapillare Anlockung zu beobachten, ja in einigen Fällen, so besonders bei dem Jauchebakterium dem Alanin gegenüber genügt ein Bruchteil der Konzentration der Außenlösung von der wirksameren Komponente in der Kapillare, um noch Chemotaxis zu bewirken. Damit ist die Überlegenheit der chemotaktischen Reizbarkeit gegenüber der natürlich vorkommenden Aminosäure im Vergleich zu der nur synthetisch herstellbaren am deutlichsten erwiesen.

Das Ergebnis unserer Untersuchung läßt sich also wie folgt formulieren.

1. Manche Aminosäuren wirken stark chemotaktisch anlockend auf Vibrionen.

2. Die Verhältnisschwelle ist von der Größenordnung 100 : 1.

3. Die Konzentrationsschwelle für das nur künstlich herstellbare optische Isomere ist bei den geprüften Aminosäuren 100—1000 mal so hoch als für das in der Natur vorkommende.

4. Diese Überlegenheit der natürlichen Komponente zeigt sich auch darin, daß sie noch bevorzugt wird gegenüber der gleichen oder selbst beträchtlich höheren Konzentration ihres optischen Isomeren.

Ob damit eine allgemeine Regel gefunden ist, ob sie wenigstens in der Mehrzahl der Fälle herrscht, wie wir annehmen möchten, oder ob in einzelnen Fällen Ausnahmen zu entdecken sein werden, kann aus unserm Versuchsmaterial bei seiner Beschränkung auf drei Aminosäuren und eine begrenzte Zahl von beweglichen Mikroorganismen noch nicht erschlossen werden. Zieht man in Betracht, daß l- und d-Alanin ganz gleich schmecken, so kann man mit der Möglichkeit rechnen, daß auch der Reiz-

sinn der beweglichen Mikroorganismen gelegentlich durch die Antipoden gleichartig erregt wird.

Die in unsern Versuchen verwandten optisch-aktiven Aminosäuren waren folgenden Ursprungs: Die beiden Leucine wurden aus synthetischem Leucin über die Formylverbindungen mit Brucin gespalten.<sup>1)</sup> Auf demselben Wege sind die Komponenten des Phenylalanins aus synthetischem gewonnen worden.<sup>2)</sup> Das d-Alanin stammte aus Seide,<sup>3)</sup> während das l-Alanin aus racemischem vermittelst der Hefegärung hergestellt wurde.<sup>4)</sup>

#### d-Phenylalanin.

Zur optischen Bestimmung diente die Lösung in Wasser:

0,1146 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 5,9310 g.  $d_{20} = 1,0043$ .  
Drehung bei 20° und Natriumlicht  $+ 0,68 \pm 0,02$  (1 dm-Rohr). Mithin  
 $[\alpha]_D^{20} = + 35,05^\circ$ . Früherer Wert  $+ 35,1^\circ$ .

#### l-Phenylalanin.

0,1081 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 5,6201 g.  $d_{20} = 1,0043$ .  
Drehung bei 20° und Natriumlicht  $- 0,68 \pm 0,01$  (1 dm-Rohr). Mithin  
 $[\alpha]_D^{20} = - 35,2^\circ$ .

#### d-Leucin.

Zur optischen Bestimmung diente 20%ige Salzsäure.

0,1860 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 4,9026 g.  $d_{20} = 1,1$ .  
Drehung bei 20° und Natriumlicht  $- 0,66 \pm 0,01$  (1 dm-Rohr). Mithin  
 $[\alpha]_D^{20} = - 15,81^\circ$ . Früherer Wert  $- 15,9^\circ$ .

#### l-Leucin.

0,3413 g Substanz. Gesamtgewicht der Lösung 7,6797 g.  $d_{20} = 1,1$ .  
Drehung bei 20° und Natriumlicht  $+ 0,77 \pm 0,01$  (1 dm-Rohr). Mithin  
 $[\alpha]_D^{20} = + 15,75^\circ$ .

#### d-Alanin.

Zur optischen Bestimmung diente die Lösung des salzsauren Salzes in Wasser.

<sup>1)</sup> E. Fischer und O. Warburg, Ber., Bd. 38, S. 3997 (1905).

<sup>2)</sup> E. Fischer und W. Schoeller, Liebigs Annalen, Bd. 357, S. 1 (1907).

<sup>3)</sup> E. Fischer, Ber., Bd. 49, S. 453 (1907).

<sup>4)</sup> F. Ehrlich, Biochem. Zeitschr., Bd. 8, S. 438 (1906).

0,6134 g Substanz entsprechend 0,8664 Chlorhydrat. Gesamtgewicht der Lösung 8,8034.  $d_{20} = 1,0283$ . Drehung bei  $20^\circ$  und Natriumlicht  $+ 1,00 \pm 0,02^\circ$  (1 dm-Rohr). Mithin  $[\alpha]_D^{20} = + 9,88^\circ$ . Frühere Werte  $10^\circ$ .

**d-Alanin.**

0,5493 g Substanz entsprechend 0,7769 g Chlorhydrat. Gesamtgewicht der Lösung 6,4286 g.  $d_{20} = 1,0240$ . Drehung bei  $20^\circ$  und Natriumlicht  $- 1,25^\circ \pm 0,01^\circ$  (1 dm-Rohr). Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 10,03^\circ$ .

**Charlottenburg und Greifswald, Ende März 1916.**

---