

Verstärkung der Katalasewirkung in Hefezellen.

2. Mitteilung.

Von

Hans v. Euler und Ingvar Laurin.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm)
(Der Redaktion zugegangen am 17. Juni 1919.)

In einer vorhergehenden Mitteilung¹⁾ wurde gezeigt, daß es auf drei verschiedenen Wegen gelingt, die Katalasewirkung in den Hefezellen stark zu erhöhen, ohne daß sich Anhaltspunkte für die Neubildung von Enzym zeigen, nämlich:

durch Entwässern der Hefe,

durch Einwirkung von Protoplasmagiften und

durch Erwärmen auf geeignete Temperaturen, bei Brennerei-Oberhefe S B II auf 55—63°.

Seither ist diese Erscheinung hier weiter studiert worden, und zwar besonders an einer Mycodermahefe — hierüber wird in einer Mitteilung von E. Vougt an anderer Stelle berichtet — und an *Saccharomyces Thermantitonus*.

I.

Die Versuchsanordnungen bei der Untersuchung von *Saccharomyces Thermantitonus* waren genau die gleichen, wie die in der vorhergegangenen Mitteilung angegebenen, auf welche wir also verweisen. Wir beschränken uns auf die Angabe unserer schließlichen Ergebnisse.

Zu jedem Versuch wurden 15 ccm Hefensuspension angewandt, enthaltend 0,0885 g frische Hefe. Hierzu 50 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung (0,01 n.) und 100 ccm Natriumphosphat als Puffer. $p_H = 6,1$.

¹⁾ Euler und Blix, Diese Zeitschr. Bd. 105, S. 83 (1919).

Bei Einwirkung der Protoplasmagifte Toluol und Chloroform erhielten wir folgende Reaktionskonstanten k , welche also ein Maß für die Geschwindigkeit der Spaltung von Wasserstoffsperoxyd sind. Zugesezt waren je 0,25 ccm Toluol bzw. Chloroform (Übersättigung).

	ohne Gift	mit Toluol	mit Chloroform
$k \cdot 10^4$	158	193	506
Rel. Reakt. Geschw.	1	1,2	3,2

Wir konnten also auch an dieser Hefe durch Chloroform eine Verstärkung der Katalasewirkung von über 300 % feststellen.

II.

Demgegenüber ist es nun auffallend, daß die Katalasewirkung dieser Hefe durch Erwärmung nicht aktiviert werden konnte. Parallelversuche waren immer mit der Hefe S B II angestellt worden; wir führen als Beispiele folgende Konstanten an:

	Erhitzt auf	—	57,8°	69,4°
$k \cdot 10^4$ {	S B II	58	540	0
	Sacch. Therm.	65	7	0

Auch bei tieferen Temperaturen wurde keine Aktivierung an Sacch. Therm. erzielt.

Was nun die Ursache der bei Brennerei-Oberhefe beobachteten enormen Verstärkung durch Erwärmen betrifft, so haben neuere Versuche, über welche wir demnächst berichten werden, es wahrscheinlich gemacht, daß dieser Effekt auf die gleiche Wirkung zurückzuführen ist, wie die Abhängigkeit der Inaktivierungskonstanten der Saccharase von der Konzentration und die Abweichung der Inaktivierung vom normalen Reaktionsverlauf. Wir nehmen an, daß es sich hier durchweg um Änderungen im Zustand des kolloiden enzymatischen Katalysators handelt, Änderungen, welche mit dem Quellungsgrad bzw. dem Wassergehalt der Enzymmoleküle verbunden sein werden. In dieser Hinsicht soll zunächst untersucht werden, ob sich eine Parallelität mit der inneren Reibung nachweisen läßt.

Mit der Änderung des Quellungszustandes wird eine Verschiebung des Dispersitätsgrades eintreten und ein ultramikroskopisches Studium der Enzymlösungen im kritischen Temperaturgebiet könnte in Betracht gezogen werden. An Pankreatinlösungen und an Lösung von kolloidalem Platin hat in einer sehr bemerkenswerten Arbeit G. Cesana solche ultramikroskopischen Versuche ausgeführt¹⁾. Immerhin ist die Deutung solcher Ergebnisse schwierig, da ja fast alle Enzymlösungen noch einen sehr großen Überschuß von kolloidalen Verunreinigungen enthalten. Inwiefern die von Cesana in der erwähnten Arbeit gefundenen, allerdings recht kleinen Aktivierungen an Trypsin und kolloidalem Platin auf die gleichen Ursachen zurückzuführen sind, wie die Verstärkung der Katalasewirkung in Hefezellen, läßt sich einstweilen noch nicht entscheiden.

III.

Wie Erwärmung auf Temperaturen über einer gewissen Grenze zerstörend auf die Katalase einwirken, so tritt auch durch Belichtung mit Strahlen des sichtbaren Spektrums und mit ultravioletten Strahlen eine Hemmung der Enzymwirkung ein. Die eingehendsten Versuche darüber verdankt man Lockemann, Thies und Wichern²⁾. Es lag nahe, zu untersuchen, ob die von Euler und Blix gefundene Temperaturaktivierung auch durch eine gewisse Bestrahlung hervorgerufen werden kann. Wir haben mit frischer Hefe gearbeitet, welche wir, bei konstant gehaltener Temperatur, der direkten Sonnenstrahlung ausgesetzt haben. Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß auch die Katalase innerhalb der frischen Hefezelle gegen Sonnenlicht recht empfindlich ist, es trat schon nach 30 Minuten eine Verminderung der Katalasewirkung um 30 % des ursprünglichen Wertes ein, während die Gärtätigkeit dabei nur wenig (unter 5 %) gehemmt wird³⁾.

¹⁾ Cesana, *Archivio di Fisiol.* Bd. 11, S. 130 (1913).

²⁾ Lockemann, Thies und Wichern, *Diese Zeitschr.* Bd. 88, S. 390 (1908).

³⁾ Wolfgang Ostwald (*Biochem. Zeitschr.* Bd. 10, S. 1 |1908|) hat

Eine Aktivierung konnten wir bis jetzt nicht feststellen. Zieht man in Betracht, in welchem engem Temperaturgebiet die Temperaturaktivierung der Hefe eintritt, so findet man, daß nur eine gründliche Untersuchung mit weitgehender Variation der Strahlungsintensität und der Wellenlängen hier zu einem endgültigen Ergebnis führen kann. Jedenfalls sollen diese Versuche hier fortgesetzt werden. Einstweilen mag daran erinnert werden, daß Wolfgang Ostwald¹⁾ bei der Belichtung seiner Raupen mit Strahlen des sichtbaren Spektrums, besonders mit gelbem Licht, eine anfängliche Steigerung der Katalasewirkung beobachtete. Die Vermutung liegt nahe, daß es sich hier um eine unserer Temperaturaktivierung analoge Lichtaktivierung der Katalasewirkung handelt.

IV.

Über die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf die Katalase liegen ebenfalls eingehende Versuche von Lockemann, Thies und Wichern (l. c.) vor. Ihr Ergebnis war negativ, Röntgenstrahlen haben auf die Wirksamkeit der Blutkatalase keinen merklichen Einfluß, wie denn überhaupt Röntgenstrahlen auf isolierte Enzyme nicht einzuwirken scheinen²⁾.

Es wäre also anzunehmen, daß freie Katalase auch innerhalb der Hefe durch Röntgenstrahlen nicht beeinflusst wird, und schien hier ein Mittel vorzuliegen, Aufschluß über eventuelle Verbindung dieses Enzyms mit dem Protoplasma zu erhalten, falls eine Hemmung der Katalasewirkung innerhalb der lebenden Zelle eintrat.

In der Röntgenabteilung der hiesigen Hochschule wurden deshalb einige orientierende Versuche ausgeführt; Herrn Dozenten Dr. G. Aminoff sind wir für seine Hilfe zu Dank verpflichtet.

eine Hemmung der Katalasewirkung bei der Bestrahlung lebender Raupen (Porthesia) gefunden.

¹⁾ Wolfgang Ostwald l. c. S. 46—69.

²⁾ Schmidt-Nielsen, Hofm. Beitr. Bd. 5, S. 400 (1904). Jodlbauer, Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. 80, S. 488 (1904). P.T. Richter und Gerhartz, Berl. klin. Wochenschr. Bd. 45, S. 646 (1908).

In zwei Versuchsserien wurden je 4 Emulsionen von frischer Oberhefe S B II je 5, 10 und 15 Minuten den Röntgenstrahlen ausgesetzt. Die Bedingungen waren folgende:

Abstand der in Glasröhren eingeschmolzenen Hefe von der Kathode: 20 cm.

Volt im Primärstrom: 115.

Ampère im Primärstrom: 5.

Hauptwiderstand des Primärkreises, Ohm: 20.

Milliampère im Sekundärstrom: 3.

Härte: 9.

Platinkathode.

Unmittelbar nach der Bestrahlung wurde die Hefe in der gleichen Weise wie die unbestrahlte abgewogen, in Wasser aufgeschlemmt und in Bezug auf Katalasewirkung untersucht. Bei keinem der angestellten Versuche konnte eine über die Versuchsfehler hinausgehende Änderung der Katalasewirkung nachgewiesen werden.

Zusammenfassung.

1. Die von Euler und Blix bei einer Oberhefe gefundene Aktivierung der Katalasewirkung durch Chloroform wurde auch bei *Saccharomyces Thermantitonum* nachgewiesen. Dagegen zeigte sich bei dieser Hefe keine Aktivierung durch Temperaturerhöhung. Die gefundenen Aktivierungen der Katalase werden hypothetisch auf eine Änderung des Quellungs-zustandes des kolloiden Enzymmoleküls zurückgeführt.

2. Durch die Strahlen des Sonnenlichtes wird die Wirkung der in den lebenden Zellen enthaltenen Katalase in kurzer Zeit geschwächt. Eine Aktivierung der Hefenkatalase durch solche Bestrahlung wurde noch nicht erreicht.

3. Röntgenstrahlen beeinflussen die Katalasewirkung der lebenden Hefe nicht.