

Studien über die Spezifität der Zellfermente mittels der optischen Methode.

I. Mitteilung.

Von

Emil Abderhalden und Andor Fodor.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 3. August 1913.)

Unsere Fragestellung war kurz folgende: Enthalten die verschiedenartigen Zellen des tierischen Organismus proteo- und peptolytische Fermente, die auf Zellbestandteile der Gewebsart, der sie entstammen, eingestellt sind oder verfügen alle Zellarten über einheitliche Fermente? Man könnte sich wohl vorstellen, daß alle Zellen über gemeinsame Fermente verfügen, die auf die ihnen zugeführten Nahrungsstoffe eingestellt sind. Es wäre jedoch auch denkbar, daß außerdem noch jede Zellart über ganz spezifisch wirkende Fermente verfügt. Jacoby¹⁾ hat das letztere Problem bereits mit anderer Methodik in Angriff genommen und wenigstens für die Leber eine spezifische Einstellung der proteolytischen Fermente beobachtet.

Die angewandte Methodik war kurz die folgende.²⁾ Zuerst wurde aus völlig entbluteten Organen mittels des Buchnerschen Verfahrens Preßsaft dargestellt. Die erhaltenen Resultate waren nicht ganz einheitlich. Wir führen das darauf zurück, daß in der Kieselguhr stets eine mehr oder weniger große Anzahl von Fermenten zurückgehalten werden. Bessere Resultate erhielten wir, als wir Macerationssäfte zu den einzelnen

¹⁾ M. Jacoby, Hofmeisters Beiträge, Bd. 3, S. 446 (1903). — Vgl. auch Ch. Richet, C. r. de la Soc. de biol., Bd. 55, S. 656 (1903).

²⁾ Vgl. hierzu: Emil Abderhalden, Abwehrfermente. 2. Auflage, J. Springer. Berlin 1913.

Untersuchungen verwendeten. Von diesen gaben wir 1 ccm zu 1 ccm einer Peptonlösung, die aus bestimmten Organen bereitet worden war. Es wurde dann bei 37° das Drehungsvermögen des Gemisches verfolgt.

Untersucht wurde die Wirkung von Leber-, Nieren- und Schilddrüsenmacerationssaft auf Pepton aus Leber, Niere und Schilddrüse. Die Organe und der Macerationssaft stammten von Pferden.

Das Ergebnis war das folgende: Macerationssaft aus Leber baute Leberpepton ab, nicht aber Pepton aus Niere oder Schilddrüse.

Schilddrüsenensaft spaltete Pepton aus Schilddrüse sehr energisch. Er griff jedoch Leber- und Nierenpepton nicht an.

Nierenmacerationssaft spaltete Pepton aus Niere und Leber, ferner wurde unter drei Versuchen einmal auch Pepton aus Schilddrüse zerlegt.

Aus diesen Beobachtungen, die zum Teil auch durch Versuche bestätigt sind, bei denen das Dialysierverfahren in Anwendung kam, geht hervor, daß die Leber- und Schilddrüsenzellen über Fermente verfügen, die spezifisch auf Bestandteile dieser Zellen eingestellt sind. Nur die Nierenzellen scheinen keine so spezifisch eingestellten Fermente zu besitzen, resp. es wird ihre Anwesenheit durch Fermente verdeckt, die recht mannigfaltige Substrate abzubauen vermögen. Vielleicht kommt in dieser Tatsache die Funktion der Niere zum Ausdruck, alles abzufangen und vor der Ausscheidung zu zerlegen, falls das Blut Produkte mit sich führt, die noch zusammengesetzter Natur sind und zugleich plasmafremden Charakter haben. Sollte vielleicht die Niere die Abwehrfermente abgeben? Wir werden diesen Fragen weiter nachgehen.

Mit der angegebenen Methodik lassen sich noch zahlreiche Fragen studieren. Wir haben damit begonnen, den Einfluß von Phosphaten auf die Fermentwirkung festzustellen, und ferner zu prüfen, ob bestimmte Gase einen Einfluß ausüben. Bis jetzt erwies sich Kohlensäure als ganz indifferent. Allerdings muß man in jedem Falle berücksichtigen, daß der

Grad der Drehung nicht ohne weiteres ein Maßstab für den Umfang des Abbaus ist. Die Drehung der Abbauprodukte kann sich addieren oder auch subtrahieren! Man muß in jedem Falle durch Kontrollversuche mit verschiedenen Verdünnungen das Resultat sichern.

Vor allem wird das Verhalten gegenüber Serumeiweiß zu prüfen sein. Die bisherigen Erfahrungen reichen zu einer Schlußfolgerung noch nicht aus.

Experimenteller Teil.

Bereitung der Organsäfte.

Leber und Niere von Pferden wurden fein zerhackt, in fließendem Wasser entblutet und das vom Blute beinahe völlig befreite Organ mit der 3fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung im Brutschrank bei 37° zunächst 3—4 Stunden unter Toluolzusatz maceriert. Der so gewonnene Macerations-saft war in der Regel noch schwach rosarot gefärbt und wurde stets verworfen. Nun wurde das Organ mit einer gleich großen neuen Menge physiologischer Kochsalzlösung 12—14 Stunden unter Toluolzusatz maceriert (37°) und nach Ablauf dieser Zeit durch ein Faltenfilter filtriert. Das Filtrat war stets fast farblos und völlig klar. So wurden erhalten:

Lebermacerationssaft I, Schilddrüsen- und Nierenmacerationssaft I.

Lebermacerationssaft II wurde durch Verdünnen des Saftes I mit dem gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung gewonnen.

Bereitung des Peptons.

Das Organ (Leber, Nieren und Schilddrüse vom Pferd) wurde, wie oben geschildert, zerhackt und entblutet. Der blutfreie Brei wurde in die 3fache Menge eiskalter 70%iger Schwefelsäure eingetragen und das Gemisch 3mal 24 Stunden hindurch bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Jetzt wurde das Hydrolysat in die 10fache Menge Eiswasser gegossen und die Schwefelsäure mit Barythydrat genau gefällt. Das klare, gelbliche Filtrat

Nierenmacerationssaft (Pferd)

		Lebermacerationssaft (Pferd)			Nierenmacerationssaft (Pferd)		
Beobachtungszeit	Std.	1 ccm Lebermacerationssaft (I)			1 ccm Nierenmacerationssaft (I)		
		+	+	+	+	+	+
		1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Nierenpeptonlösung 10%	1 ccm Leberpeptonlösung 10%	1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Leberpeptonlösung 10%	1 ccm Nierenpeptonlösung 10%
Beobachtungszeit	Std.						
2		+ 0,02°	- 0,47°	- 0,48°	+ 0,01°	- 0,48°	- 0,47°
3		+ 0,02°	- 0,50°	- 0,45°	+ 0,02°	- 0,46°	- 0,41°
6 1/2		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,45°	+ 0,00°	- 0,45°	- 0,39°
7 1/2		+ 0,02°	- 0,47°	- 0,42°	+ 0,00°	- 0,45°	- 0,35°
9		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,41°	+ 0,02°	- 0,35°	- 0,25°
10		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,41°			
24		+ 0,00°	- 0,46°	- 0,40°			
		Lebermacerationssaft (II)			Nierenmacerationssaft (II)		
Beobachtungszeit	Std.	1 ccm Lebermacerationssaft (II)			1 ccm Nierenmacerationssaft (II)		
		+	+	+	+	+	+
		1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Nierenpeptonlösung 10%	1 ccm Leberpeptonlösung 10%	1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Leberpeptonlösung 10%	1 ccm Nierenpeptonlösung 10%
Beobachtungszeit	Std.						
2		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,47°	+ 0,01°	- 0,48°	- 0,47°
4		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,47°		- 0,45°	- 0,46°
6		+ 0,02°	- 0,47°	- 0,46°		- 0,36°	- 0,30°
12		+ 0,02°	- 0,46°	- 0,40°			
		Lebermacerationssaft (I)			Nierenmacerationssaft (I)		
Beobachtungszeit	Std.	1 ccm Lebermacerationssaft (I)			1 ccm Nierenmacerationssaft (I)		
		+	+	+	+	+	+
		1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Nierenpeptonlösung 10%	1 ccm Leberpeptonlösung 10%	1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Leberpeptonlösung 10%	1 ccm Nierenpeptonlösung 10%
2		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,48°		- 0,48°	- 0,48°
4		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,47°		- 0,45°	- 0,46°
6		+ 0,02°	- 0,47°	- 0,46°			
12		+ 0,02°	- 0,48°	- 0,40°			
		1 ccm Nierenmacerationssaft (I) mit CO ₂ gesättigt + 1 ccm Leberpeptonlösung 10%					
2						- 0,48°	- 0,48°
4						- 0,45°	- 0,46°
6							
12						- 0,36°	- 0,30°

hinterließ nach dem Verdampfen im Vakuum bei 40° einen gelben Rückstand, der mit siedendem Methylalkohol ausgezogen wurde. Durch Fällen des Auszuges mit dem doppelten Volumen absoluten Methylalkohol + dem gleichen Volumen Äther wurde eine schneeweiße voluminöse Fällung erzielt, die abgenutscht und sodann über Schwefelsäure im Exsikkator getrocknet wurde. Aus dem schneeweißen Peptonpulver wurde jeweilen eine 10%ige Lösung in 9%iger Kochsalzlösung dargestellt und diese unter Toluol aufbewahrt.

Beobach- tungs- zeit in Std.	I. Leber- macerationssaft			II. Schilddrüsen- macerationssaft			III. Nieren- macerationssaft		
	1 cem Saft + 1 cem Leber- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Nieren- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Schild- drüsen- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Leber- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Nieren- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Schild- drüsen- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Leber- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Nieren- pepton- lösung	1 cem Saft + 1 cem Schild- drüsen- pepton- lösung
	2	-0,52°	-0,56°	-0,42°	-0,58°	-0,52°	-0,44°	-0,51°	-0,59°
4	-0,50°	-0,57°	-0,43°	-0,57°	-0,54°	-0,40°	-0,52°	-0,57°	-0,61°
6	-0,46°	-0,56°	-0,43°	-0,59°	-0,54°	-0,32°	-0,51°	-0,52°	-0,61°
8	-0,48°	-0,55°	-0,43°	-0,58°	-0,54°	-0,36°	-0,49°	-0,50°	-0,60°
16	-0,44°	-0,56°	-0,44°	-0,58°	-0,56°	-0,34°	-0,46°	-0,42°	-0,59°
24	-0,42°	-0,57°	-0,44°	-0,57°	-0,55°	-0,30°	-0,47°	-0,38°	-0,58°
30	-0,36°	-0,56°	-0,42°	-0,59°	-0,54°	-0,22°	-0,45°	-0,34°	-0,58°
36	-0,38°	-0,56°	-0,44°	-0,60°	-0,55°	-0,16°	-0,42°	-0,32°	-0,59°

Zu diesen Versuchen ist noch zu bemerken, daß Serie I und II sechsmal mit gleichem Erfolge wiederholt worden sind. Serie III ist dreimal durchgeführt worden. Einmal wurde Schilddrüsenpepton abgebaut. Bei jedem einzelnen Versuche wurde der Macerationssaft mit physiologischer Kochsalzlösung ohne Pepton angesetzt. Er änderte in keinem Falle sein Drehungsvermögen.