

Über den Nachweis peptolytischer Fermente.

Von

Emil Abderhalden und Alfred Schittenhelm.

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule, Berlin und dem
Laboratorium der medizinischen Klinik, Erlangen.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. August 1909).

Die Untersuchung auf proteolytische und peptolytische Fermente hat in neuester Zeit von mancherlei Fragestellungen aus lebhaftes Interesse erweckt. Es sind eine ganze Anzahl mehr oder weniger einfacher und auch mehr oder weniger eindeutiger Methoden zum Nachweis proteolytischer Fermente ausgearbeitet worden. Keine einzige dieser Methoden vermag den Nachweis von Fermenten der Gruppe des Trypsins und des Erepsins in qualitativer und quantitativer Hinsicht mit solcher Schärfe und Exaktheit zu führen, wie das durch die Verwendung optisch-aktiver Polypeptide resp. racemischer asymmetrisch spaltbarer Polypeptide der Fall ist. Die Verfolgung der Änderung des Drehungsvermögens eines bestimmten Polypeptids unter dem Einfluß einer Fermentlösung gibt uns einen exakten Einblick in das Vorhandensein und die Wirkungsweise bestimmter Fermente. Diese Methode, die wir als die beste bezeichnen möchten, dürfte wohl kaum eine allgemeinere Verwendung finden, weil einmal die Beschaffung der Polypeptide nicht ganz leicht ist und ferner ein guter Polarisationsapparat zur Ausführung der Versuche notwendig ist. Auch ohne Polarisation läßt sich mit bestimmten Polypeptiden eine klare Entscheidung über das Vorhandensein der Gruppe der peptolytischen Fermente herbeiführen. Einmal könnte man ein Polypeptid wählen, das Biuretreaktion gibt, während die Spaltprodukte keine solche mehr zeigen. Oder aber man wählt ein Polypeptid, das Tryptophan enthält und prüft mit Bromwasser die Verdauungsflüssigkeit auf freies Tryptophan.

Diese beiden Methoden sind nicht ganz einwandfrei, weil die zugesetzte Fermentlösung Proteine enthalten kann, die ebenfalls Biuretreaktion geben und aus denen auch Tryptophan frei werden kann. Ganz einwandfrei wird der Nachweis peptolytischer Fermente, wenn Polypeptide angewandt werden, die eine schwer lösliche Aminosäure, z. B. Tyrosin, Leucin, Cystin, in größerer Menge enthalten und die selbst leicht löslich in Wasser sind. Die eingetretene Spaltung gibt sich dann an der ausfallenden Aminosäure kund. Glycyl-l-tyrosin hat sich z. B. für derartige Versuche sehr gut bewährt. Oft sieht man in positiven Fällen schon nach wenigen Stunden ein Auskrystallisieren des Tyrosins.

Wir haben nun anstelle des nicht so leicht darstellbaren Glycyl-l-tyrosins ein Pepton aus Seide gewonnen, das in Wasser spielend löslich ist und sehr viel Tyrosin enthält. Es wird durch partielle Hydrolyse aus Seide dargestellt und wird von der Chemischen Fabrik Hoffmann-La Roche & Cie. in Basel-Grenzach als «Pepton Roche» in den Handel gebracht. Das «reine» Pepton stellt ein schneeweißes, sich in Wasser farblos lösendes Pulver dar. Es ist in diesem Zustande wenig hygroskopisch. Für die meisten Versuche genügt ein weniger gut gereinigtes Produkt. Die Ausführung der Versuche ist sehr einfach. Das Pepton wird in 10—50%iger Lösung angewandt. Die Lösung wird auf ihre Reaktion geprüft. Ist sie schwach sauer, so wird soviel Natriumbicarbonat zugegeben, bis die Lösung ganz schwach alkalisch reagiert. Die Lösung muß ganz klar sein. Sollte das nicht der Fall sein, so wird filtriert. Nun setzt man die zu prüfende Fermentlösung zu, gießt etwas Toluol hinzu und bringt die Probe in den Brutschrank. Von Zeit zu Zeit wird beobachtet. Sind peptolytische Fermente vorhanden, so beobachtet man nach kurzer Zeit Ausscheidung von Tyrosin. Sie kann durch Abkühlen der Lösung vervollständigt werden.¹⁾

¹⁾ Seidenpepton ist schon früher (vgl. z. B. Peter Bergell und Albert Schütze: Zur Frage der Antipankreatinbildung. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 50, S. 305. 1905) zum Nachweis von proteolytischen Fermenten angewandt worden.

Tabelle 1.
Probefrühstück.

Name	HCl	Gesamt- acidität	Fibrin	Mett	Pepton	
					Reaktion	Ausfall
1. Sch.	schwach +	34	+	+	schwachsauer	—
2. W.	+	56	+	+	„	—
3. K.	+	66	+	+	„	—
4. St.	—	10	+	+	alkalisch	—
5. M.	+	58	+	+	neutral	—

Tabelle 2.

Name u. Alter	Diagnose	Probefrühstück		Ölfrühstück			
		HCl.	Gesamt- acidität.	Mett	Fibrin	Casein	Pepton.
1. G. B. 54 J.	Gastrit. chronica ..	neg.	40	+	+	+	+
2. H. K 24 >	Obstipatio	pos.	68	+	+	+	+
3. J. N. 48 >	Enteritis chron....	pos.	—	+	+	+	+
4. G. St. 47 >	Carcinoma ventric.	neg.	—	—	—	—	+
5. M. K. 26 >	Enteroptose, Chole- lithiasis	pos.	66	+	+	+	+
6. J. Sch. 17 >	Dyspepsia anacida	neg.	30	+	+	+	+
7. M. H. 31 >	Dyspepsia nervosa	neg.	37	+	+	+	+
8. Fr. B. 25 >	Ozaena	—	—	+	+	+	+
9. G. H. 33 >	Obstipatio	—	—	+	+	+	+
10. J. M. 25 >	Neurasthenie	pos.	58	—	—	—	—
11. M. D. 71 >	Obstipatio chron. .	pos.	82	+	+	+	+
12. B. D. 26 >	Neurasthenie	—	—	ganz wenig +	ganz wenig +	+	+
13. M. B. 36 >	Neurasthenie	—	—	+	+	+	+
14. L. D. 25 >	Spitzenaffektion ...	pos.	—	+	+	+	+
15. A. G. 42 >	Obstipation	—	—	—	—	—	—
16. F. K. 33 >	Dyspeps. nervosa .	pos.	64	+	+	+	+
17. J. H. 54 >	Icterus catarrhal. .	pos.	66	—	—	+	+
18. A. Sch. 38 >	Hyperacidität; Obstip.	pos.	85	—	ganz wenig +	+	+
19. A. K. 27 >	Anacidität	neg.	19	—	—	—	+
20. L. Sch. 23 >	Hyperacidität	pos.	100	—	—	—	—
21. J. M. 57 >	Icterus; Cholelith. .	—	—	—	+	+	+
22. F. S. 55 >	Icterus grav. Carcin. hepatis	—	—	—	—	+	+
23. J. H. 61 >	Carcin. ventric. ...	neg.	—	—	schwach +	schwach +	schwach +
24. Chr. Str. 38 J.	Diabetes	—	—	—	—	+	+
25. E. Gs. 64 >	Cholelithiasis	—	—	—	—	ganz wenig +	—

*) Autopsie: eitrige Cholecystitis; kleine Abszesse im Pancreas.

Tabelle 3.

Faeces.

Name	Diagnose	Mett	Fibrin	Casein	Pepton
1. D.	normal	—	—	—	—
2. Ders.	»	—	—	+	+
3. H.	»	—	+	+	+
4. E.	»	—	+	+	+
5. B.	»	—	—	+	+
6. St.	»	—	+	+	+
7. W.	»	—	schwach +	schwach +	+
8. H.	«	—	—	schwach +	+
9. V.	»	—	—	+	+
10. S.	»	—	—	+	+
11. H.	»	—	—	+	+
12. S.	acholisch	—	—	+	+
13. Hs.	leicht diarrhoisch	—	—	+	+
14. St.	Diabetes	—	—	+	+
15. H.	acholisch	—	—	+	+

Werden die zu vergleichenden Versuche unter gleichen Bedingungen durchgeführt, so könnte man durch Abfiltrieren und Wägen des ausgeschiedenen Tyrosins die Fermentspaltung auch quantitativ verfolgen. Der große Vorteil dieser Methode ist, daß sie außerordentlich einfach ist und vor allen Dingen keine weiteren Manipulationen, wie Einengen, Kochen usw., mit der Verdauungsflüssigkeit notwendig sind. Selbstverständlich kann das Pepton auch zu optischen Untersuchungen Verwendung finden.

Wir verfügen über sehr viele Versuche, welche alle die Brauchbarkeit der Methode beweisen. Verschiedene Preßsäfte aus Organen — Leber, Niere, Muskeln — spalteten Tyrosin ab, auch das Plasma von Kaninchenblut wirkt hydrolysierend. Normaler Magensaft spaltet kein Tyrosin ab. Wir haben nun weiterhin das Seidenpepton als Reagens auf peptolytische Fermente in den folgenden Fällen geprüft. Einmal untersuchten wir den Mageninhalt nach einem gewöhnlichen Probe-frühstück (Tabelle 1) und ferner nach Oeileingabe (Tabelle 2). Bei der letzteren Untersuchung wurden gleichzeitig nach Mett, Groß-Fuld (Casein) und mit Hilfe einer Fibrinflocke ver-

gleichende Versuche angestellt. Endlich haben wir auch in den Faeces nach peptolytischen Fermenten gesucht (Tabelle 3).

Wir zweifeln nicht daran, daß das Seidenpepton seiner Zuverlässigkeit und einfachen Anwendungsart wegen zu Prüfungen auf die An- oder Abwesenheit von peptolytischen Fermenten vielfach Anwendung finden wird. Es wird leicht möglich sein, ein Pepton zu gewinnen, das bei gleicher Darstellungsart eine in engen Grenzen konstante Zusammensetzung aufweist. Sie läßt sich durch die Bestimmung des Tyrosin- und Glykokollgehaltes leicht kontrollieren und vor allen Dingen wird die Feststellung des Drehungsvermögens einen Anhaltspunkt geben. Selbstverständlich kann, wie früher schon erwähnt, der Abbau des „Pepton Roche“ auch durch Beobachtung der Änderung des Drehungsvermögens seiner wässerigen Lösung nach Zusatz von peptolytischen Fermenten verfolgt werden. Das Seidenpepton dürfte ferner zur Kultur von Bakterien u. dgl. geeignet sein. Es besteht die Absicht, auch aus anderen Proteinen in analoger Weise Peptone zu gewinnen, um ein mannigfaltigeres Versuchsmaterial zur Auffindung von peptolytischen Fermenten zur Verfügung zu haben. Wir hoffen durch Verwendung verschiedenartiger Peptone mit Hilfe der optischen Methode die Frage nach der Einheit oder Verschiedenartigkeit der peptolytischen Fermente entscheiden zu können.
