

# Ueber das Protamin aus den Spermatozoen des *Accipenser stellatus*.

Von

Privatdocent Dr. D. Kurajeff.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium bei der militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.)

(Der Redaction zugegangen am 18. Januar 1901.)

Die bisher beschriebenen Protamine können in zwei Gruppen, nämlich die des Salmins (Salmin, Clupein und Scombrin) und die des Sturins (Sturin), welche sich von einander nach ihrer chemischen Zusammensetzung sehr scharf unterscheiden, eingetheilt werden. Das Interesse für diese eigenartigen Substanzen, welches durch die Untersuchungen von Prof. A. Kossel hervorgerufen wurde, ruft das Bestreben hervor, noch andere Protamine aus dem Sperma möglichst verschiedener Fische zu gewinnen und zu untersuchen. In letzter Zeit ist es mir gelungen, das Vorkommen von echten Protaminen in den reifen Spermatozoen des Hechtes, des Welses (*Silurus Glanis*) und des *Accipenser stellatus* zu constatiren.

Die Menge des zu meiner Verfügung stehenden Spermas des Hechtes und des Welses war leider sehr gering, so dass ich eine nähere Untersuchung der Protamine dieser Fische bis auf die Beschaffung einer genügenden Quantität des Spermas verschieben muss. Was aber das Protamin des *Accipenser stellatus* anlangt, so möchte ich hier die von mir darüber erhaltenen Thatsachen vorläufig mittheilen. Das Sperma des Welses und des *Accipenser stellatus* habe ich durch die Hülfe des Herrn Prof. O. Grimm, dem ich auch hier meinen besten Dank aussprechen möchte, aus Baku (Kaukasus) bekommen.

Die Spermatozoen aus den Testikeln des Welses und des *Accipenser stellatus* wurden während der Laichzeit (Mai, 1900) nach der gewöhnlichen von F. Miescher angegebenen Methode erhalten. Die weitere Behandlung der Spermatozoen

und Darstellung der Protamine habe ich nach der von A. Kossel ausgearbeiteten Methode ausgeführt.

Die Spermatozoenmasse des *Accipenser stellatus* wurde zuerst durch Extraction mit heissem Alkohol und Aether fettfrei gemacht und dann mit ca. 1%iger Schwefelsäure wiederholt extrahirt. Bei der Fällung des sauren Extractes mit Alkohol bildete sich zuerst ein feinlockiger weisser Niederschlag, der sich sehr bald in eine zähe klebrige Masse verwandelte. Diese Masse wurde in heissem Wasser gelöst und wieder mit Alkohol gefällt: dabei erschien kein Niederschlag und die ganze Flüssigkeit wandelte sich in eine weisse milchartige Emulsion um. Unter dem Mikroskop betrachtet, bestand diese Emulsion aus kleinsten Oeltröpfchen. Nach mehrtägigem Stehen der Emulsion sammelte sich auf dem Boden des Gefässes eine zähe ölartige Masse, doch war die Flüssigkeit noch ziemlich trübe. Durch Zusatz von wenig Kochsalz wurde die Emulsion in einen Niederschlag von mehr oder weniger flockiger Beschaffenheit verwandelt. Die Niederschläge und die Lösungen des Protaminsulfats von *Accipenser stellatus* enthielten keine merkliche Menge Farbstoff, was bei Darstellung der anderen Protaminsulfate gewöhnlich der Fall ist. Das Protaminsulfat wurde in das Pikrat und daraus wieder in das Sulfat übergeführt. Darauf wurde das Protaminsulfat noch dreimal aus der wässerigen Lösung mit Alkohol gefällt, bis ein schneeweisser ganz flockiger Niederschlag erhalten war. Aus der ca. 21,0 g schweren, lufttrockenen, mit heissem Alkohol und Aether extrahirten Spermatozoenmasse des *Accipenser stellatus* habe ich über 3,2 g Protaminsulfat gewonnen. Das Protaminsulfat besitzt alle für echte Protamine typischen Eigenschaften: es gibt eine schöne Biuretreaction, dagegen keine Millon'sche Reaction, in einer schwach ammoniakalischen Lösung fällt das Protaminsulfat die Wittepeptonlösung. Die Löslichkeit des Protaminsulfats in Wasser ist, wie es scheint, viel grösser, als diejenige des Scombrin- oder Clupeinsulfats: nur nach dem Eindampfen der wässerigen Protaminsulfatlösung bis auf einige Cubikcentimeter konnte ich nach dem Erkalten der Flüssigkeit eine kleine Menge des

nur wenig gelb gefärbten durchsichtigen Oels bekommen. Die wässrige Lösung des Protaminsulfats des *Accipenser stellatus* reagirt auf Lackmuspapier sauer. Die Elementaranalyse des bei 105—115° C. bis zum constanten Gewicht ausgetrockneten Protaminsulfats des *Accipenser stellatus* gab folgendes Resultat:

1.	0,1464 g	Substanz gaben	0,1076 g	BaSO <sub>4</sub>
3.	0,2072	•	0,1502	• BaSO <sub>4</sub>
3.	0,1930	•	0,2314	• CO <sub>2</sub> und 0,1038 g H <sub>2</sub> O
4.	0,2016	•	0,2438	• CO <sub>2</sub> • 0,1188 • H <sub>2</sub> O
5.	0,1274	•	21,1	ccm. N <sub>2</sub> bei 15,5° und 764 mm. Bar.
6.	0,1250	•	20,9	• N <sub>2</sub> • 19° • 766 •

			im Mittel
C	32,69	32,98	32,83
H	5,97	6,54	6,25
N	19,46	19,37	19,41
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	30,91	30,49	30,70

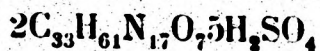
Die gefundenen Analysenzahlen für das Protaminsulfat des *Accipenser stellatus* stimmen am besten mit der Formel C<sub>35</sub>H<sub>72</sub>N<sub>18</sub>O<sub>9</sub> 4H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> überein.

Berechnet für	Gefunden im Mittel
C <sub>35</sub> H <sub>72</sub> N <sub>18</sub> O <sub>9</sub> 4H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
C—32,81	32,83
H— 6,25	6,25
N—19,68	19,41
O—31,25	31,49
S—10,00	10,02

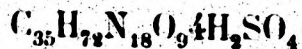
Das Verhältniss C:N ist in den gefundenen Zahlen 1,973.

Wenn man das von mir beschriebene Protamin aus den Spermatozoen des *Accipenser stellatus* mit den schon bekannten Protaminen, d. h. mit dem Salmin (Clupein), Scombrin und Sturin vergleicht, so sieht man, dass es sich von allen insbesondere von den Protaminen der Salmingruppe sehr scharf unterscheidet. Seiner Herkunft nach muss das neue Protamin dem Sturin nahe stehen, und dies ist in der That der Fall. Das Protaminsulfat des *Accipenser stellatus* besitzt ebenso wie das Sturinsulfat eine grosse Löslichkeit im Wasser und ist reich an Schwefelsäure. Doch sind die beiden Protamine nicht identisch, was aus den Elementarformeln der beiden Protaminsulfate ganz klar ersichtlich ist:

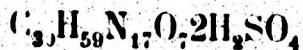
Die elementare Formel für das Sturinsulfat (A. Kossel<sup>1)</sup>) ist



Die elementare Formel für das Protaminsulfat des *Accipenser stellatus*



Die elementare Formel für das Salminsulfat



Weitere Untersuchungen über die Spaltungsprodukte (resp. Hexonbasen) des neuen Protamins müssen noch andere Anhaltspunkte für die Beurtheilung, ob das Protamin des *Accipenser stellatus* in die Sturingruppe gestellt werden soll, ergeben. Vorläufig möchte ich das Protamin aus den Spermatozoen des *Accipenser stellatus* als «*Accipenserin*» bezeichnen.

Es bleibt mir zum Schluss übrig, noch einige Worte über das Protaminsulfat des Welses (*Silurus glanis*) zu sagen. Dieses Protaminsulfat (es sei als «*Silurinsulfat*» bezeichnet) besitzt einige interessante Eigenschaften. Aus seiner schwefelsauren (1%) Lösung durch Alkohol gefällt, scheidet sich das Silurinsulfat direkt als ein feinflockiger röthlicher Niederschlag aus, der sogar nach langem Stehen nicht wie andere Protaminsulfate in eine klebrige Masse umgewandelt wird. Die Löslichkeit des Silurinsulfats sogar in heissem Wasser ist im Vergleich mit derjenigen der anderen Protaminsulfate sehr gering. Beim Eindampfen der wässerigen Lösung des Silurinsulfats scheidet sich kein Oel aus, sondern es bilden sich bald an den Gefässwänden und auf der Oberfläche der Flüssigkeit sehr feine durchsichtige Häutchen, die beim Umrühren der Flüssigkeit auf den Boden des Gefässes sinken.

Leider konnte ich eine für die Elementaranalyse ausreichende Quantität des Silurinsulfats nicht darstellen und verlor es ausserdem, als ich es durch Thierkohle von einem röthlichen Farbstoffe befreien wollte. Die Thierkohle war zu fein gepulvert und ging mit der Protaminsulfatlösung durch die Filter durch. Ich möchte mir die weitere Untersuchung der Protamine des *Accipenser stellatus* und des Welses vorbehalten.

<sup>1)</sup> A. Kossel. Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 174. 1898.