

Indikationsgebietes, da die im Luminal ruhende spasmolytische Wirkung seine Anwendung bei der Epilepsie erlaubte. Durch die Mitarbeiter *Hörleins* konnte in späteren Jahren die Palette der Barbitursäuren noch einmal durch das Phanodorm, Prominal und Evipan erweitert werden, von denen das letztere durch seine Anwendbarkeit als intravenöses Kurznarkotikum wieder einen neuen Anfangspunkt einer Entwicklung darstellt.

Inzwischen war die Persönlichkeit *Hörleins* weit über die eines wissenschaftlichen Chemikers hinausgewachsen. Seine Befähigung zur Leitung der ihm in ständig wachsender Zahl anvertrauten Mitarbeiter führte bereits 1911 zu seiner Ernennung zum Abteilungsvorstand, 1914 zum Prokuristen, 1919 zum stellvertretenden Direktor und 1924 zum stellvertretenden Vorstandsmitglied der Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co., und schließlich nach vollzogenem Übergang in die I.G. Farbenindustrie 1931 zum ordentlichen Mitglied des Vorstandes und 1933 zum Mitglied des Zentralkausschusses dieser Firma. Hierdurch wurde *Hörlein* die Möglichkeit gegeben, sein glänzendes Organisations-talent vornehmlich zum Aufbau einer modernen pharmazeutischen Forschung einzusetzen. Die Schaffung einer Organisation, in der Chemiker und Mediziner in täglicher persönlicher Fühlungnahme gemeinsam und gleichberechtigt an der Lösung pharmazeutischer Probleme arbeiten sollten, konnte in einer glücklichen Zeit in Elberfeld verwirklicht werden. Seine persönliche Berührung und Freundschaft mit den führenden Hochschulchemikern, unter ihnen *Hans Fischer*, *H. Wieland* und *A. Windaus*, und ebenso mit den bedeutendsten Medizinern brachte ihn in die Lage, sich aus dem wissenschaftlichen Nachwuchs geeignete chemische und medizinische Kräfte zur Mitarbeit auszuwählen. Seine angeborene Neigung zum Syntheti-

schen, konstitutionell Erfäßbaren ließ ihn die synthetisch erhältlichen Stoffe gegenüber den aus physiologischem Material Gewonnenen bevorzugen. Durch Errichtung von Arbeitsstätten im Sinne *Ehrlichs* und durch Berufung von Mitarbeitern aus dem Arbeitskreis *Ehrlichs* schuf er die Voraussetzungen für eine Verbreiterung der chemotherapeutischen Forschung, die zu der Auffindung der synthetischen Malariamittel und der Heilwirkung der Sulfonamide in den Elberfelder Forschungsstätten geführt hat.

Sein Interesse blieb aber nicht auf das pharmazeutische Fachgebiet beschränkt, sondern umfaßte das gesamte Gebäude der Chemie und Medizin. Durch seine jahrzehntelange ehrenamtliche Mitarbeit an führender Stelle der Deutschen Chemischen Gesellschaft, der Adolf v. Baeyer-Gesellschaft, der Justus v. Liebig-Gesellschaft, der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft und der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte hat er sich für die chemische und medizinische Forschung im allgemeinen, für die Förderung der deutschen Hochschulen, für die Pflege des Nachwuchses und für die wissenschaftliche Literatur im besonderen außerordentliche Verdienste erworben. Sein Wirken in dieser Richtung geht auch heute nach seinem Übertritt in den Ruhestand unermüdlich weiter und hat wesentlich zur Fortführung der großen chemischen Standardwerke und zum Wiederaufleben der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte beigetragen.

Seine zahlreichen Freunde und Mitarbeiter von Hochschulen und Industrie vereinigen sich zu seinem 70. Geburtstag in dem Wunsch, daß es ihm noch lange Jahre vergönnt sein möge, mit dem gleichen leidenschaftlichen Interesse an der Weiterentwicklung chemischer und medizinischer Forschung Anteil zu nehmen wie bis zum heutigen Tage.

F. Mietzsch

Über den Feinbau einiger Proteine

Von Privatdozent Dr.-Ing. H. ZAHN*)

Chemisches Institut der Universität Heidelberg

Ein Bericht über neue Ergebnisse und Fragestellungen der molekularen Morphologie der Proteine.
Nach Charakterisierung einiger Begriffe wie globuläre und fibrilläre Proteine, α - und β -Proteine, werden Theorien behandelt, welche die Bildung von Faserproteinen beschreiben. Im speziellen Teil wird an ausgewählten Beispielen der heutige Stand unserer Kenntnisse über den molekularen Feinbau der Proteine umrissen: Hämoglobin und Myoglobin sind die röntgenographisch am weitesten aufgeklärten kristallisierten Proteine. Die Muskelproteine Tropomyosin und Actin sowie Insulin werden als Beispiele für Eiweißkörper genannt, welche je nach den Reaktionsbedingungen als globuläre Moleküle oder als Fibrillen auftreten. Unter den zum Schluß angeführten typischen Faserproteinen verdient das Keratin wegen der Faltungsform seiner Peptidketten in der α -Keratin-Modifikation, die später als eine universale Konstellation der Polypeptidketten erkannt wurde, besonderes Interesse. Die Fibrillen der Kollagenfaser zeigen im Elektronenmikroskop eine sehr deutliche Querstreifung, über deren Ursache neueste Forschungsarbeiten Aufschluß geben.

1. Einführung

Wenn man versucht, wichtige Ergebnisse der modernen Proteinforschung zu nennen, wird man zunächst an die ersten Reindarstellungen definierter Proteine in kristalliner Form denken. So erhielt *Sumner*¹⁾ 1926 in der Urease das erste kristallisierte Enzym. 1935 gelang *Stanley*²⁾ beim Tabakmosaikvirus erstmalig die Kristallisation eines Viruskörpers. *Northrop*³⁾ hat das Diphtherieantitoxin als ersten Antikörper 1941 kristallin erhalten.

Während die Aminosäure-Analysen früher unvollständig und nicht zuverlässig waren, führte *Brand*⁴⁾ bei kristallisiertem Pepsin eine komplette Bausteinanalyse durch. Diese erlaubte die Aufstellung einer Summenformel der Aminosäure-Reste (vgl. Tabelle 1).

Auch bei Lactoglobulin konnten *Brand* und Mitarbeiter⁵⁾ 99,62 % der Aminosäuren erfassen und eine Baustein-Summenformel aufstellen (vgl. Tabelle 2).

Der nächste Schritt ist die Bestimmung der Reihenfolge der Aminosäure-Reste in der Polypeptidkette. *Sanger* und

*) Erweiterte Fassung eines Vortrages anlässlich der Hauptversammlung der GDCh Frankfurt/M., 10. 7. 1950.

¹⁾ J. biol. Chemistry 69, 436 [1926].

²⁾ Science [New York] 81, 644 [1935].

³⁾ J. Gen. Physiol. 25, 465 [1941].

⁴⁾ E. Brand u. J. T. Edsall, Ann. Rev. Biochem. 1947, 224.

⁵⁾ E. Brand, L. J. Saidel, W. H. Goldwater, B. Kassell u. F. J. Ryan, J. Amer. Chem. Soc. 67, 1524 [1945].

Aminosäure	Abkürzung	Zahl der Reste je Mol
Glykokoll	Gly	29
Alanin	Ala	nicht bestimmt
Valin	Val	21
Leucin	Leu	27
Isoleucin	Ileu	28
Prolin	Pro	15
Phenylalanin	Phe	9
Tryptophan	Try	4
Cystein	(CySH)	2
Cystin/2	(CyS-)	4
Methionin	Met	4
Arginin	Arg	2
Histidin	His	2
Lysin	Lys	2
Asparaginsäure	Asp	9
Glutaminsäure	Glu	28
Asparagin	(Asp-NH ₂)	32
Serin	Ser	40
Threonin	Thr	28
Tyrosin	Tyr	16
Wasser	(H ₂ O)	2
Rest der Phosphorsäure	(H ₂ PO ₄ ⁻)	1

Tabelle 1

Bausteinanalyse von kristallisiertem Pepsin
Molekulargewicht = 34400. Gesamt-Stickstoff-Gehalt = 14,60 %

Molekulargewicht = 42020

Atom-Summenformel = C₁₈₆₄H₃₀₁₂N₄₆₈S₂₁O₅₇₄

Baustein-Summenformel:

Gly₈Ala₂₂Val₁Leu₅₀Ileu₂₇Pro₁₅Phe₆(CySH)₄(CyS-)₈Met₉
Try₄Arg₇His₃Lys₃₃Asp₃₆Glu₂₄(Glu-NH₂)₃₂Ser₂₀Thr₂₁Tyr₉(H₂O)₄

Zahl der Aminosäurereste = 370

Zahl der Peptidbindungen = 366

Zahl der Peptidketten = 4

Durchschnittliches Restgewicht = 113,7 – 113,9

Tabelle 2
Analyse von Lactoglobulin

Tuppy⁶) haben kürzlich die Reihenfolge aller 30 Aminosäuren der Phenylalanyl-Kette des Insulins aufgeklärt (vgl. Tabelle 3).

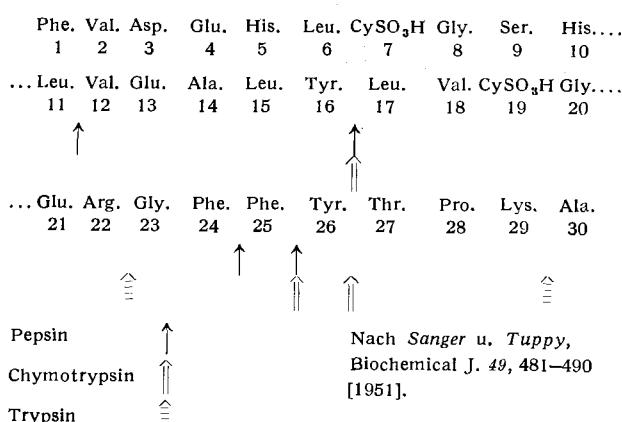


Tabelle 3. Insulin
Reihenfolge der Aminosäuren in der Phenylalanylketten

Diese erstaunlichen Fortschritte waren der Anwendung neuer Methoden zur Analyse von Proteinen und ihren Hydrolysenprodukten zu verdanken. Es sind dies vor allem die mikrobiologische Bestimmung von Aminosäuren, die Methode der Isotopenverdünnung und die Verteilungchromatographie an Säulen oder ihre modernste Variante, die Papierchromatographie^{7, 8}.

⁶) Biochemic. J. 49, 463, 481 [1951].⁷) R. Consten, A. H. Gordon u. A. J. P. Martin, Biochemic. J. 38, 224 [1944].⁸) F. Cramer: Papierchromatographie, Weinheim, 1952.

Ein anderes Arbeitsgebiet, die Morphologie der Proteine, welche sich mit Form und Größe der Moleküle und ihrer Aggregate, ferner mit Beziehungen zwischen Gestalt und chemischen, physikalischen sowie biologischen Vorgängen am Protein befaßt, hat ebenfalls bemerkenswerte Ergebnisse gezeitigt. Brill⁹) hat das Faserprotein Seidenfibrin röntgenographisch aufgeklärt. Bernal und Crowfoot¹⁰) erhielten 1934 beim Pepsin die ersten Röntgenogramme von Protein-Einkristallen mit vollkommener Ordnung. Weitere Arbeiten besonders von K. H. Meyer^{11, 12}), H. Mark¹¹), W. T. Astbury^{13, 14} und O. Kratky¹⁵) bildeten die Grundlage einer neuen Nomenklatur der Proteine, welche man nach der Form ihrer Moleküle in lösliche globuläre und fibrilläre häufig unlösliche Proteine einteilt^{15a, 15b}).

Das letzte Jahrzehnt erbrachte mit Hilfe des Elektronenmikroskopies den Nachweis feinster quergestreifter Mikrofibrillen in Faserproteinen wie Fibrin und Kollagen^{16, 17, 18}).

Im Verlaufe der erfolgreichen und raschen Entwicklung der Proteinforschung mußten einige Hypothesen der Eiweißchemie revidiert werden. So ist die Hypothese, wonach die Molekulargewichte der Proteine ganzzahlige Vielfache von 17000 sind, nicht mehr uneingeschränkt anzuwenden. Es wurden Proteine charakterisiert, deren Molekulargewicht z. B. 10000, 13000, 26000 und 46000 beträgt.

Nach Bergmann und Niemann¹⁹) soll die Zahl der Aminosäure-Reste einer Sorte in einem gegebenen Protein durch $2^n \cdot 3^m$ ausdrückbar sein. Ferner soll die Gesamtzahl der Aminosäure-Reste in dieser Proteinmolekel $n \cdot 288$ betragen. Wir wissen heute, daß diese Regel auf unrichtigen Analysen von nicht einheitlichen Proteinen beruhte, und daß bis jetzt keine derartige Regelmäßigkeit in der Reihenfolge der Aminosäuren experimentell gefunden worden ist⁶).

Ähnliches gilt für einige Vorstellungen, welche man sich über die sterische Anordnung der Peptidketten in den Proteinen gemacht hat, z.B. die Cycloltheorie von Wrinch²⁰) sowie die ersten Modelle für α -Keratin von Astbury¹⁴).

Es soll der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse von der Gestalt der Kettenmoleküle in den Proteinen an einigen ausgewählten Beispielen aufgezeigt werden. In erster Linie wurden Experimentalarbeiten zugrunde gelegt, welche sich auf die Elektronenmikroskopie, Röntgenographie und Ultrarotspektroskopie stützen.

Wie erfolgreich sich elektronenoptische und röntgenographische Methoden ergänzen, zeigt das Beispiel des kristallisierten Tabaknekrosevirus (betr. Tabakmosaikvirus vgl.^{21, 22}): Die Virusteilchen besitzen einen Durchmesser von 240 Å und bauen ein kubisch dicht gepacktes Gitter auf. Das Partikelgewicht der Gitterbausteine beträgt etwa 1000000^{22a}) (vgl. Bild 1, S. 301).

Dieselben Daten wurden auch röntgenographisch erhalten.

Kristallisiertes Edestin bildet nach elektronenmikroskopischer Prüfung ein flächenzentriertes kubisches Gitter

⁹) Liebigs Ann. Chem. 434, 204 [1923].¹⁰) Nature [London] 133, 794 [1934].¹¹) D. Aufbau d. hochpolymer. organ. Naturstoffe, Leipzig, 1930.¹²) Experientia 7, 361 [1951].¹³) W. T. Astbury u. A. Street, Philos. Trans. Roy. Soc. [London] A 230, 75 [1931].¹⁴) W. T. Astbury u. H. J. Woods, ebenda 232, 333 [1933].¹⁵a) Mh. Chemie 77, 224 [1946].¹⁵b) I. Fankuchen, Ann. Rev. Biochem. 14, 207 [1945].¹⁶) D. Crowfoot, Ann. Rev. Biochem. 1948, 115.¹⁷) C. Wolpers, Das Leder 1, 3 [1950].¹⁸) H. Ruska u. C. Wolpers, Klin. Wschr. 19, 659 [1940].¹⁹) F. O. Schmitt: Chemistry a. Physiology of Growth, Princeton Univers. Press 1949, S. 49.²⁰) J. biol. Chemistry 118, 301 [1937].²¹) Nature [London] 137, 411 [1936].²²) J. D. Bernal u. I. Fankuchen, J. Gen. Physiol. 25, 111, 147 [1941].²²) G. Schramm, diese Ztschr. 57, 109 [1944]; 62, 27 [1950]; Z. Naturforsch. 2b, 112 [1947].^{22a}) R. Markham, K. M. Smith u. R. W. G. Wyckoff, Nature [London] 161, 760 [1948].

mit $a_0 = 114 \text{ \AA}$ ^{22b}), während feuchte Kristalle laut röntgenographischer Strukturanalyse $a_0 = 140 \text{ \AA}$ ergeben.

β -Lactoglobulin ist das erste Protein mit niedrigem Molekulargewicht (36000), das im Elektronenmikroskop erfolgreich untersucht worden ist. Auf der (100)-Fläche von Lactoglobulin-Kristallen wurden mit Hilfe des Matrizenumdruckverfahrens²³) feine Streifen parallel zur b-Achse mit einem Abstand von 105 \AA in 50 \AA hohen Stufen gefunden²⁴). Nahezu dieselben Werte wurden an getrockneten Lactoglobulin-Kristallen röntgenographisch²⁵) festgestellt.

2. Einige Definitionen und Methoden der Proteinmorphologie

Unter globulären Proteinen versteht man kristalline, in wässrigen Lösungen lösliche Proteine, deren Gestalt einer Kugel, einem Rotationsellipsoid, einem Zylinder oder einer Scheibe ähnlich ist. Man kennt sehr stark asymmetrische „globuläre“ Proteine. Die Ermittlung der Gestalt dieser Proteine gelingt durch folgende Methoden^{26, 27}):

- a) Bestimmung der Reibungsfaktoren aus der Messung der Sedimentations- oder Diffusionskonstante bei Proteinen bekannter Molgewichtes.
- b) Viscositätsmessungen an Protein-Lösungen.
- c) Messung der Dispersion der Dielektrizitätskonstante.
- d) Strömungsdoppelbrechung, bes. bei stark asymmetrischen Molekülen.
- e) Röntgenographische Messungen an Protein-Einkristallen.
- f) Röntgenkleinwinkelstreuung an Protein-Lösungen.
- g) Lichtzerstreuung.
- h) Osmotische Messungen.
- i) Direkte Abbildung von Proteinmolekülen im Elektronenmikroskop.

Die globulären Proteine bestehen wie alle Proteine aus Polypeptid-Ketten²⁸). Da eine gestreckte Kette z. B. in den etwa 50 \AA großen Hämoglobinmolekülen nur bei Annahme von Faltungen untergebracht werden kann, diskutiert man symmetrische Faltungsformen der Ketten oder Spiralstrukturen usw.

Man unterscheidet zwischen der langen und der kurzen Faltung („long fold“ und „short fold“). Die lange Faltung misst den Abstand zwischen den wenigen Wendepunkten der Peptidketten im Innern der Molekel. Die Kurzfaltung bezieht sich auf die innerhalb der Kette vorliegenden Faltungen, Spiralformen usw. Die Kurzfaltung in der Kette vieler Proteine beträgt etwa 5 \AA (vgl. Bild 9).

Fibrilläre Proteine sind faserförmige, meist unlösliche Proteine wie Seidenfibrin, Kollagen, Keratin und Myosin. Man nimmt an, daß die Polypeptid-Ketten in den Faserweißkörpern zu parallelen Bündeln gepackt in der Faserrichtung liegen¹²). Astbury teilt die Faserproteine in zwei Untergruppen ein^{29, 30}): Die erste Gruppe umfaßt die Proteine Keratin, Myosin, Epidermin und Fibrinogen (KMEF-Gruppe). Diese Proteine zeichnen sich durch eine hohe Elastizität aus, welche auf einen spezifischen Entfaltungsmechanismus der Kurzfaltung zurückgeführt wird. Die zweite Gruppe der fibrillären Proteine wird durch Kollagen repräsentiert.

Das Faserröntgenogramm von Proteinen der KMEF-Gruppe ist durch einen Meridianreflex entsprechend 5,1 \AA und zwei starke Äquatorreflexe entsprechend 9,8 und 27 \AA

^{22b}) C. E. Hall, J. biol. Chemistry 185, 45 [1950].

²³) R. W. G. Wyckoff: Electron Microscopy, Technique and Applications New York, London 1950, Kap. 10.

²⁴) I. M. Dawson, Nature [London] 168, 241 [1951].

²⁵) D. P. Riley, Nature [London] 168, 241 [1951].

²⁶) J. T. Edsall, Fortschr. Chem. Forsch. 1, 119 [1949].

²⁷) G. V. Schulz, Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. 54, 13 [1950].

²⁸) E. Fischer: Unters. über Aminosäuren, Polypeptide u. Proteine, Berlin 1906.

²⁹) W. T. Astbury, Trans. Faraday Soc. 34, 377 [1938].

³⁰) W. T. Astbury u. S. Dickinson, Proc. Roy. Soc. [London] B 129, 307 [1940].

ausgezeichnet. Man nennt dieses Röntgenogramm α -Keratin. Die durchschnittliche Höhe eines Aminosäure-Restes in einer maximal zickzackförmig ausgestreckten Peptid-Kette beträgt 3,5–3,7 \AA . Zur Deutung von 5,1 \AA wird von Astbury eine starke Faltung der Ketten im α -Keratin angenommen, derart, daß drei Aminosäure-Reste eine Höhe von 5,1 \AA einnehmen. Somit beträgt die durchschnittliche Höhe eines Aminosäure-Restes entlang der Faserrichtung (b-Achse) 1,7 \AA .

α -Struktur besitzen auch einige synthetische Polypeptide, wie Polyglutaminsäureester³¹), Poly-DL- β -phenylalanin sowie Mischpolymere aus DL- β -Phenylalanin und L-Leucin^{32, 33}).

Beim Dehnen von Proteinen der KMEF-Gruppe findet man im Röntgenogramm an Stelle des 5,1 \AA -Reflex eine Sichel bei 3,35–3,4 \AA . Dies entspricht etwa der Höhe eines einzelnen Aminosäure-Gliedes der gestreckten Peptid-Kette in der β -Modifikation. Auf diesen Befunden beruht die Annahme einer molekularen Entfaltung beim Dehnen der fibrillären Proteine der KMEF-Gruppe. Auf dem Äquator des Röntgenogramms tritt ein neuer starker Reflex von 4,65 \AA auf, während der 9,8 \AA -Reflex wenig verändert wird. Diese Äquatorreflexe werden auf zwischenmolekulare Periodizitäten zurückgeführt. 9,8 \AA ist der Abstand zwischen den Peptid-Ketten der α - wie der β -Proteine in Richtung der Seitenketten³⁴).

4,65 \AA entspricht dem Abstand zwischen über Wasserstoff-Brücken verbundenen Peptid-Ketten. Wasserstoff-Brücken quer zu den Peptid-Ketten sind neben der Streukung der Hauptkette charakteristisch für die β -Proteine (vgl. Bild 2).

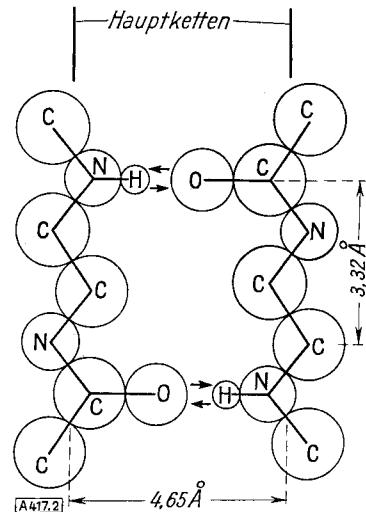


Bild 2
Anordnung der Peptidketten in einem β -Protein
(nach Nowotny und Zahn³⁵))

β -Diagramme liefern auch synthetische Polypeptide, wie Polyglycin³⁶), Poly-DL-isoleucin^{33, 37}).

³¹) E. J. Ambrose, W. E. Hanby, Nature [London] 163, 483 [1949].

³²) C. H. Bamford, W. E. Hanby u. F. Happey, Nature [London] 164, 138 [1949].

³³) C. J. Brown, D. Coleman u. A. C. Farthing, Nature [London] 163, 834 [1949].

³⁴) Alle Aminosäuren außer Glycin enthalten spezifische Reste, welche sich am Aufbau der Peptidketten nicht beteiligen und von der Kette seitlich herausragen (Seitenketten). Das mittlere Molekulargewicht der Reste beträgt 110–120. Das Restgewicht $-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}-$ in der Kette (auch Backbone genannt) beträgt 56. Danach ist etwa die Hälfte einer Proteinmolekel in den Seitenketten lokalisiert.

³⁵) H. Nowotny u. H. Zahn, Z. physikal. Chem. (B) 51, 265 [1942].

³⁶) W. T. Astbury, Nature [London] 163, 772 [1949].

³⁷) W. T. Astbury, Ch. E. Dalglish, S. E. Darmon u. G. B. B. M. Sutherland, Nature [London] 162, 596 [1948].

α - und β -Proteine lassen sich außerdem mit Hilfe spezifischer Absorptionsbanden im Ultrarotspektrum nachweisen. Die Wellenzahl der NH-Valenzschwingung beträgt 3300 cm^{-1} , die der CO-Valenzschwingung 1640 cm^{-1} . In den β -Proteinen liegen die Wasserstoff-Brücken quer zur gestreckten Kette (vgl. Bild 2). In den α -Proteinen dagegen liegen die Wasserstoff-Brücken in Richtung der Kette und bilden intrachenare Brücken, wodurch die Kurzfaltung stabilisiert wird. Daher findet man hier die NH- und die CO-Gruppen etwa parallel zur Faserrichtung. Man läßt polarisiertes Ultrarotlicht auf Proteine und synthetische Polypeptide und Polyamide einfallen und mißt den Dichoismus der genannten Frequenzen^{31, 38-43}). Wenn der E-Vektor der NH-Translationsschwingung bei zur Faserachse senkrecht Einfall der Ultrarotstrahlung größer ist, liegt ein β -Protein vor. Umgekehrt bedeutet paralleler Dichoismus den Nachweis eines α -Proteins (vgl. Bild 3).

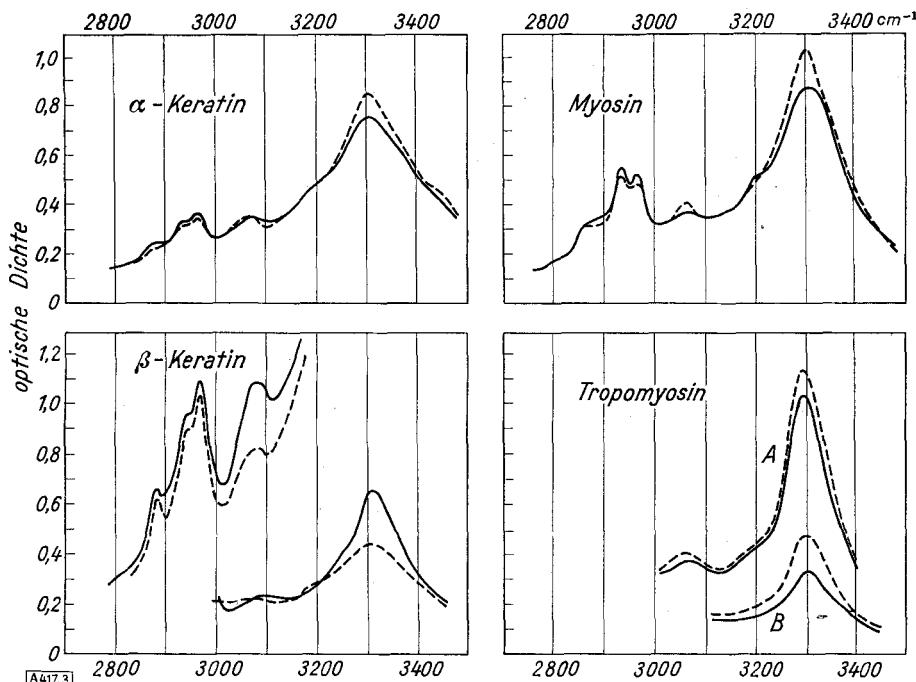


Bild 3. Ultravolspektren von Proteinen bei polarisierter Bestrahlung. Die ausgezogenen bzw. gestrichelten Kurven zeigen Spektren mit dem E-Vektor senkrecht bzw. parallel zur Kettenachse. Bei Tropomyosin wurden die Kurven B mit einem dünnen Präparat aufgenommen. Das gleiche gilt für die Bande des β -Keratins bei höherer Wellenzahl. (Nach E. J. Ambrose, A. Elliott und R. B. Temple, Nature [London] 163, 859 [1949].)

Neben den beiden Modifikationen α - und β -Protein wird noch eine dritte Modifikation, das superkontrahierte Keratin diskutiert. Gedehnte Haare verkürzen sich nach bestimmter Vorbehandlung in Dampf über die ursprüngliche Länge hinaus. Ungedehnte Fasern kontrahieren um 30–50 % unter der Einwirkung von Chemikalien oder Hitze. Nach Astbury^{13, 14}) ist die Fadenverkürzung molekular zu deuten, wofür verschiedene Modelle mit regelmäßig überfalteten Peptid-Ketten entwickelt wurden. Auch Pauling⁴⁴) schlägt eine stark verkürzte Schraubenkette mit $0,99\text{ \AA}$ als Höhe eines Aminosäure-Restes für superkontrahierte Haar und Muskel vor. Es ist jedoch beobachtet worden, daß superkontrahierte Keratine je nach der Vorbehandlung und dem Kontraktionsmittel keine an-

³⁸) E. J. Ambrose, A. Elliott u. R. B. Temple, Nature [London] 163, 859 [1949].

³⁹) E. J. Ambrose u. C. Robinson, ebenda 166, 194 [1950].

⁴⁰) E. J. Ambrose u. A. Elliott, Proc. Roy. Soc. [London] A 205, 47 [1951].

⁴¹) Dieselben, ebenda 206, 206 [1951].

⁴²) A. Elliott u. E. J. Ambrose, Nature [London] 165, 921 [1950].

⁴³) S. E. Darmon, G. B. B. M. Sutherland, Nature [London] 164, 440 [1949].

⁴⁴) Vortrag, 120. Meeting Amer. Chem. Soc. New York 4. 9. 1951.

deren Reflexe im Röntgenogramm zeigen als die des α - oder β -Keratins. Elöd, Nowotny und Zahn⁴⁵) sowie Huggins⁴⁶) diskutieren daher eine Desorientierung der Ketten im amorphen Bereich. Die kristallinen Anteile werden zwar desorientiert und meist von α - in β -Keratin verwandelt, eine dritte Form entsteht jedoch nicht⁴⁷).

3. Denaturierung

Die charakteristischen Reflexe des β -Keratins treten auch bei denaturierten Proteinen auf. Die Verwandlung nativer löslicher Proteine in einen isoelektrischen Punkt unlösliches Produkt durch Wärme, Oberflächenwirkung, Bestrahlung, Druck, organische Lösungsmittel und Reagenzien, welche koagulierte Proteine aufzulösen vermögen, wird Denaturierung genannt⁴⁸). Da sich zahlreiche Eigenschaften, welche von der Molekülgestalt abhängen, bei der Denaturierung ändern (Viscosität, Geschwindigkeit der Sedimentation und Diffusion, Kristallisierfähigkeit), besteht offensichtlich ein direkter Zusammenhang zwischen Denaturierung und Molekülgestalt. Nach Mirsky und Pauling⁴⁹) werden bei der Denaturierung die im globulären Protein gefalteten Ketten aufgerollt und freigelegt, die sich bei einer späteren Koagulation zu parallelen Bündeln vereinigen. Im Röntgenogramm findet man wie erwähnt eine β -Protein-Struktur^{50, 51}). Nach der Wasserstoffbrücken-Theorie⁴⁹) werden bei der Denaturierung Wasserstoff-Brücken im nativen Protein aufgespalten. Es gibt reversible Denaturierungsgleichgewichte, welche von der Protein-Konzentration unabhängig sind und somit beweisen, daß als Mechanismus für die Denaturierung bei diesen Beispielen (Trypsin, Hämoglobin) weder Dissoziationen noch Aggregationen in Frage kommen⁴⁸).

4. Polypeptidketten-Theorie der Faserproteine

Ausgehend von den fundamentalen Untersuchungen Emil Fischers²⁸), wird die Polypeptid-Kette als die chemische Einheit der Proteine angesehen. Für die fibrillären Proteine nimmt die Polypeptidketten-Theorie folgendes Bauprinzip an: Extrem dünne, vorgeformte, faserige Einheiten oder durch Entfaltung und Aufrollen globulärer Moleküle gebildete Ketten, aggregieren seitlich und längs (Bild 4). Naturfasern stellt man sich gewissermaßen als endlose Peptidketten vor^{52, 53}).

Die Ketten durchziehen kontinuierlich geordnete kristalline Bereiche und ungeordnete, sog. amorphe Bezirke und bauen ein anastomotisches System auf. Die Ketten liegen parallel zur Faserachse und repräsentieren im kleinsten molekularen Bereich das mechanisch-elastische Verhalten der ganzen Faser. Wenn eine Faser dehnbar ist,

⁴⁵) Kolloid-Z. 93, 50 [1940].

⁴⁶) Ann. Rev. Biochem. 11, 27 [1942]; Chem. Rev. 32, 195 [1943].

⁴⁷) E. Elöd u. H. Zahn, Melland Textilber. 28, 2 [1947].

⁴⁸) M. L. Anson, Adv. Protein Chem. 2, 361 [1945].

⁴⁹) Proc. National Acad. Sci. (USA) 22, 439 [1936].

⁵⁰) W. T. Astbury, S. Dickinson u. K. Bailey, Biochemic. J. 29, 2351 [1935].

⁵¹) I. Fankuchen, Adv. Protein Chem. 2, 387 [1945].

⁵²) F. O. Schmitt: The Harvey Lectures 40, 249 [1944/45].

⁵³) K. Bailey, Biochemic. J. 43, 271 [1948].

so wird dies auf eine regelmäßige oder unregelmäßige Faltung der Kette zurückgeführt. Ist die Faser verkürzt, so beruht dies auf einer gleich großen Verkürzung der einzelnen Ketten. Findet man elektronenmikroskopisch oder röntgenographisch Langperioden in Faserrichtung, so wird dies mit einer periodischen Aminosäure-Zusammensetzung der Ketten gedeutet. Man identifiziert also die Langperiode mit dem Produkt aus Zahl und Höhe der einzelnen Aminosäure-Reste.

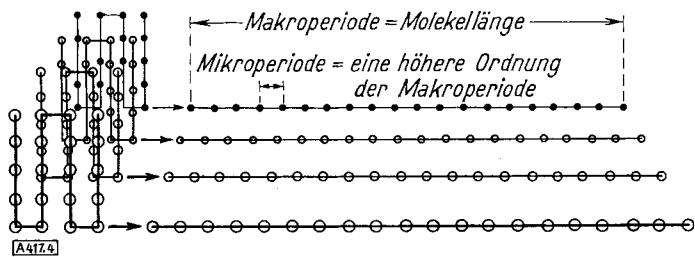


Bild 4

Bildung eines Faserproteins durch Entfaltung von globulären Proteinmolekülen. Die Punkte bedeuten Aminosäure-Reste. Eine Kette ist in der globulären Molekeln zu einem rechteckigen Rost gefaltet. (Nach Coleman und Howitt⁵⁴)

5. Langperioden-Röntgenographie⁵⁵)

Durch besondere Konstruktion der Röntgenkammern (feine Ausblendung, große Abstände zwischen Apparat und Film, Vakuum) kann man Reflexe erfassen, welche bei sehr kleinen Winkeln abgebeugt werden und nach der Braggschen Gleichung Perioden in der Größenordnung mehrerer hundert Ångström bedeuten. Derartige Langperiodenreflexe eignen sich nach Bear⁵⁶) zur Klassifizierung der Faserproteine, da viele Vertreter charakteristische Langperiodenreflexe liefern, während das übliche Kleinperiodenröntgenogramm vielfach keine Unterscheidung zuläßt (vgl. Tabelle 4).

Faserprotein	in Faserrichtung	seitlich
ungedehntes Haar	198	85
gedehntes Haar	—	66
Federkeratin	95	34
Actin	350 – 420	115
Paramyosin	720	200 – 300
Kollagen	640	—

Tabelle 4

Langperioden in Faserproteinen in Å (nach F. O. Schmitt¹⁸)

Die Kleinperiodenreflexe stammen von den kleinen Pseudozellen in abgegrenzten Teilen des ganzen Proteins⁵⁶). Wenn Protein-Fibrillen aus großen globulären Monomeren oder molekularen Partikelchen zusammengesetzt sind, dann muß dies an den Langperioden im Röntgenogramm nachweisbar sein⁵⁷).

6. Korpuskulartheorie der Faserproteine

Globuläre Insulin-Moleküle bilden ohne Denaturierung oder Entfaltung reversibel eine faserförmige Modifikation⁵⁸). Hierbei werden die Insulin-Moleküle an entgegengesetzten Polen miteinander verbunden.

Die Moleküle oder Partikelchen des Actins sind in dest. Wasser frei dissoziert; bei Zunahme der Ionenstärke vergrößern sich Doppelbrechung und Viscosität, wobei aus dem globulären Actin feinste Fädchen gebildet werden.

⁵⁴⁾ D. Coleman u. F. O. Howitt, Proc. Roy. Soc. [London] A 190, 145 [1947].
⁵⁵⁾ J. McArthur, Proc. Leeds Phil. Soc., IV, Part V, 379 [1946].
⁵⁶⁾ R. S. Bear, J. Amer. Chem. Soc. 66, 2043 [1944].
⁵⁷⁾ R. S. Bear u. H. J. Rugo, Ann. New York Acad. Sci. 53, 627 [1951].
⁵⁸⁾ D. F. Waugh, J. Amer. Chem. Soc. 66, 663 [1944]; 68, 247 [1946].

Federkeratin besteht aus großen globulären Partikeln in einer netzartigen Anordnung⁵⁹). Die Korpuskulartheorie stützt sich auf diese Beispiele und nimmt an, daß Faserproteine auch durch Aggregation von Grundmolekülen oder Partikelchen entstehen können. Wenn z. B. Hämoglobin-Moleküle in Richtung der x-Achse Ende an Ende aggregieren, würden sich Fasern bilden, welche ein α-Protein-Röntgenogramm (Bild 5) liefern würden. „Globuläre“ Teilchen und Mikrofibrillen sind danach verschiedene Aggregationsstufen paralleler Ketten bei gleicher Konstellation im Inneren (Kurzfaltung)⁶⁰). Somit würden sich fibrilläre von globulären Proteinen mehr quantitativ als qualitativ unterscheiden⁶⁰). Die Korpuskulartheorie kann auf viele Fälle der Fibrillenbildung in vivo angewendet werden. Zwischen den „monomeren“ Bausteinen entstehen Nebenvalenzbrücken oder Hauptvalenzbrücken. Man kann eine gewisse Parallele zur Polykondensation der synthetischen Chemie feststellen⁶⁰). Die fibrillären Proteine können als makromolekulare Stoffe zweiter Ordnung aufgefaßt werden, da ja die „Monomeren“ bereits makromolekular sind.

Makroperiode quer
zur Faserrichtung

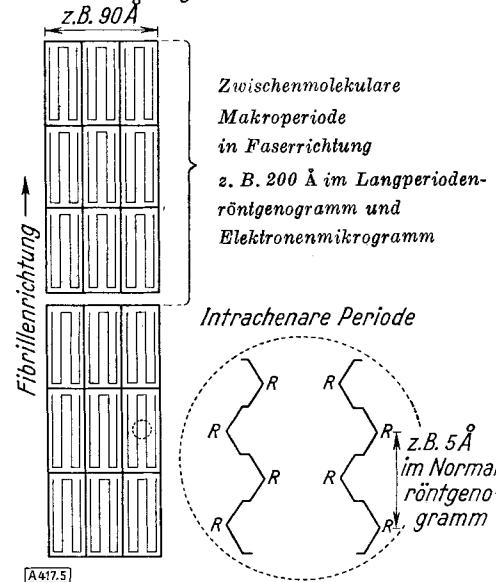


Bild 5

Schema einer Protoprotifibrille im Längsschnitt im Sinne der Korpuskulartheorie (kolumnare Aggregation von Blockmolekülen⁶¹)

7. Hämoglobin und Myoglobin

Bei Hämoglobin und Myoglobin gelang es Perutz^{59, 62–64} sowie Kendrew^{65–67} im Braggschen Institut⁶⁸) die Struktur vom Kristall bis zur einzelnen Kettenmolekeln aufzuzeigen.

Pferdehämoglobin wurde mit Kaliumeisen(III)-cyanid in Methämoglobin überführt, dieses mit Ammoniumsulfat ausgesalzen und Einkristalle gewonnen. Die Kristalle enthielten 51,4 Vol.% Wasser. Die Strukturanalyse ergab für

⁵⁹⁾ M. F. Perutz, Proc. Roy. Soc. [London] A 195, 473 [1949].
⁶⁰⁾ W. T. Astbury, R. Reed u. L. C. Spark, Biochemic. J. 43, 282 [1948].
⁶¹⁾ H. Zahn, Das Leder 1, 225 [1950].
⁶²⁾ Nature [London] 149, 491 [1942]; 150, 324 [1942]; 151, 714 [1943]; 161, 204 [1948].
⁶³⁾ Trans. Faraday Soc. [London] 42 B, 187 [1946].
⁶⁴⁾ Research 2, 52 [1949].
⁶⁵⁾ J. C. Kendrew u. M. F. Perutz, Proc. Roy. Soc. [London] A 194, 375 [1948].
⁶⁶⁾ Ebenda 201, 62 [1950].
⁶⁷⁾ Vortrag 120. Meeting Amer. Chem. Soc. New York 4. 9. 1951.
⁶⁸⁾ L. Bragg, Nature [London] 164, 7 [1949].

die Einheitszelle der monoklinen Modifikation die Daten der Tabelle 5.

Raumgruppe		a	b	c	β	Volumen Einheitszelle
C ₂	feucht	109 Å	63,2	54,4	111	349000 Å ³
	trocken	102 Å	51,4	47,0	130	189000 Å ³

Tabelle 5

Kristallographische Daten von Pferdemethämoglobin nach Perutz

In der Einheitszelle sind zwei Moleküle mit einem Molgewicht von je 68000 (etwa 540 Aminosäure-Reste) ferner das Kristallwasser unterzubringen. Über Amino-Endgruppen vgl.⁶⁹⁾. Um die interne Struktur der einzelnen Moleküle abzuleiten, wurde die Vektor-Analyse nach Patterson-Harker⁷⁰⁾ herangezogen (vgl.⁶⁸⁾). Zur Erleichterung der Zuordnung der ungewöhnlich vielen Einzeldaten (trotz Verwendung von Rechenmaschinen und Lochkartenmaschinen rechneten die Autoren allein am Hämoglobin vier Jahre) wurde der Einfluß von Quellung und Entquellung sowie die Verdrängung von Kristallwasser durch Lösungen mit schweren Ionen auf die Feinstruktur untersucht.

Es wurde gefunden, daß die Moleküle des Hämoglobins in erster Näherung die Form eines Zylinders mit einem Durchmesser von 57 Å und einer Höhe von 34 Å besitzen. Diese Zylinder lagern sich zu Schichten zusammen (vgl. Bild 6).

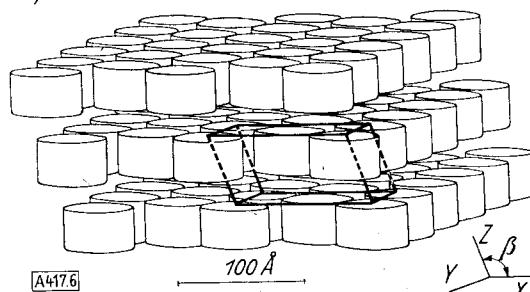


Bild 6

Packung der Hämoglobin-Moleküle in der Kristallstruktur. Eine Einheitszelle ist im Vordergrund rechts eingezeichnet. (Nach Perutz, Research 2, 52 [1949])

Zwischen den Schichten des Proteins ist das Kristallwasser laminar eingebaut. Auch zwischen die Hämoglobin-Moleküle in den Protein-Schichten dringt Wasser ein, wobei jedoch die Moleküle selbst nicht quellen.

Die Vektoranalyse zeigte, daß ein Zylinder aus 4 etwa kreisförmigen Schichten besteht, die in einem Abstand von etwas weniger als 9 Å übereinander liegen. Wie mir Dr. Max Perutz, Cambridge, nach freundlicher Durchsicht des Manuskriptes am 10. 2. 1952 mitteilte, hat sich in letzter Zeit herausgestellt, daß die Anzahl der Schichten in der Hämoglobin-Molekel nicht 4, sondern 5 beträgt (vgl. Bragg, Perutz, Crystallographica Acta, Januar 1952). Maßgebend ist die Fourierprojektion aus der zitierten Arbeit (Bild 7). Auch die Form der einzelnen Hämoglobinmolekel hat sich durch verfeinerte Messungen und durch Anwendung einer höchst eleganten Rechenmethode von Bragg etwas verändert, so daß jetzt ein Ellipsoid mit den Achsen $b=c=47 \text{ Å}$ und $a=60 \text{ Å}$ als beste Annäherung gilt. Diese Achsen verlaufen etwa parallel zu den gleichgenannten kristallographischen Achsen im monoklinen Kristall (Tab. 5). Bild 6 der vorliegenden Arbeit gibt nach wie vor die Anordnung der Hämoglobin-Moleküle im Kristall richtig wieder. Es ist wesentlich zu betonen, daß die Form der einzelnen Moleküle nur eine An-

⁶⁸⁾ R. R. Porter u. F. Sanger, Biochemic. J. 42, 287 [1948].

⁶⁹⁾ D. Harker, J. chem. Physics 4, 389 [1936]; A. L. Patterson, Z. Kristallogr. Mineral. Petrogr. 90, 517, 543 [1935].

näherung darstellt und stark schematisiert wurde. Die vier Häm-Gruppen liegen mit ihrer flachen Seite annähernd senkrecht zur Basisebene des Zylinders und sollen über die Eisen-Atome an die Imidazol-Gruppen der Histidin-Reste der Peptidketten gebunden sein. Auch die flachen Seiten der aromatischen Ringe von Tryptophan und Phenylalanin sind senkrecht zur Peptidketten-Richtung orientiert.

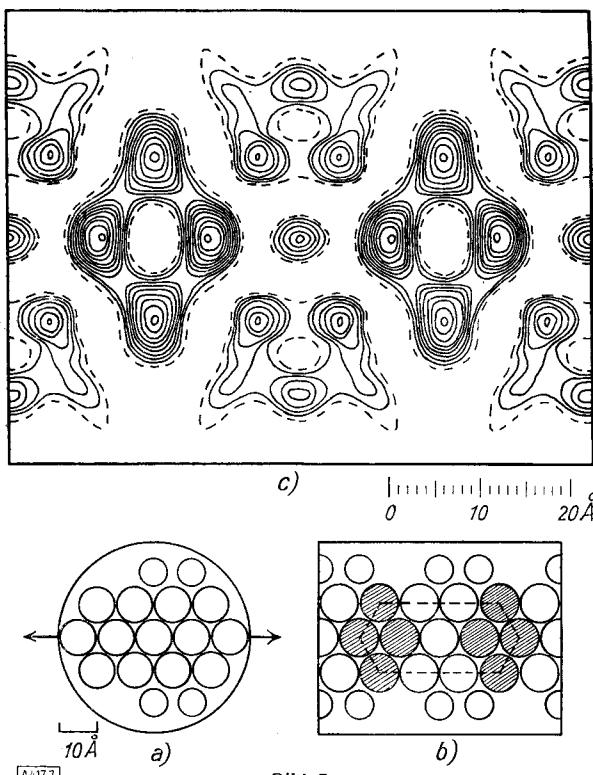


Bild 7

a) Bild einer einzelnen Hämoglobinmoleköl gesehen in Richtung der Ketten. b) Bild von zwei teilweise aufeinander gelagerten Molekülen in der Elementarzelle, wobei die schraffierte Kreise übereinander gelagerte Ketten bedeuten. c) Fourier-Synthese, wobei die Schichtlinien im Abstand von 1 el/A² gezeichnet sind. Es handelt sich hier um eine mögliche und wahrscheinliche Fourier-Projektion; die absolute Höhe der Maxima beträgt jedoch nur $1/3$ des Wertes, der für eine einfache aus geraden Ketten bestehende Moleköl zu erwarten ist. (Nach Bragg und Mitarbeitern, Crystallographica Acta, Januar 1952).

Diese von Perutz berechnete Schichtstruktur der Moleküle stimmt mit früheren Annahmen überein, wonach Proteine laminaire Strukturen bevorzugt bilden⁷¹⁾.

Die nächste Frage betrifft die Anordnung der Peptidketten innerhalb der einzelnen Scheiben eines Ellipsoids. Als Ergebnis einer vollständigen, dreidimensionalen Vektoranalyse wurde ein zentral gelegenes stabförmiges Gebilde entdeckt, welches parallel zur Basisebene der Zylinder in Richtung der X-Achse verläuft (Bild 8). Der zen-

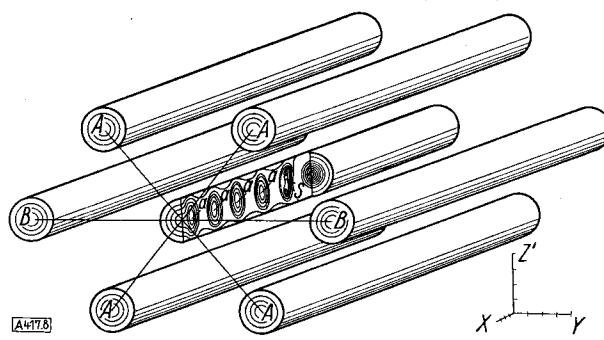


Bild 8

Idealisiertes Bild der stabartigen Strukturen auf Grund der Vektoranalyse. Die Unterteilung des Achsenkreuzes unten rechts bedeutet Ångström-Einheiten. (Nach M. F. Perutz⁶⁹⁾)

⁷¹⁾ W. T. Astbury, Nature [London] 137, 803 [1936].

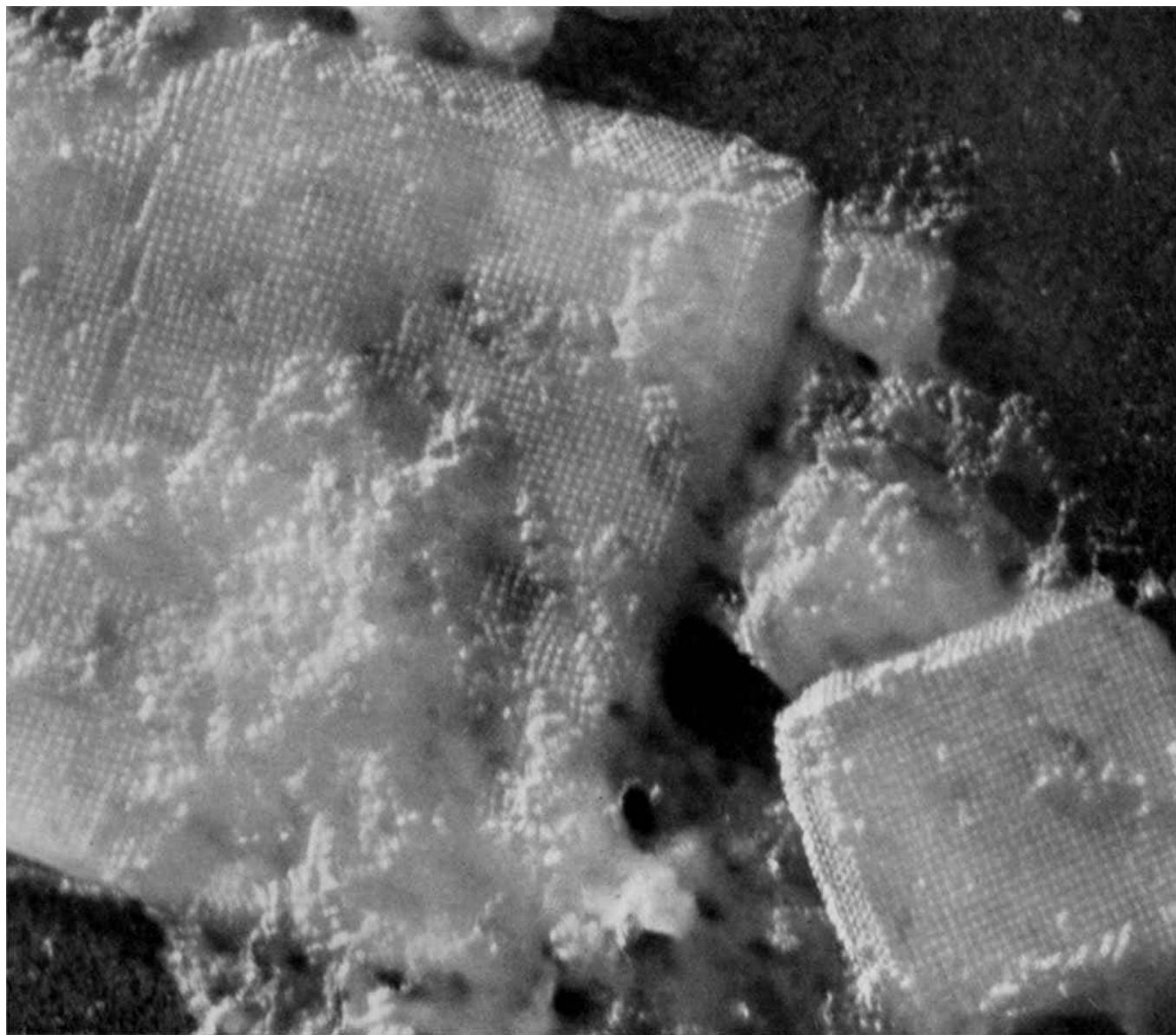


Bild 1. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Tabaknekroseviruskristalls (Abbildung 90000 : 1). Das Originalphoto wurde uns freundl. von Prof. Dr. Wyckoff zur Verfügung gestellt. (s. a.^{23, 22a})

trale Stab ist von einem Satz ähnlicher Stäbe im Abstand von 10,5 Å umgeben.

In Richtung der Stäbe wurden Dichtemaxima in einer Periode von 5 Å gefunden. Jede Einzelschicht des Zylinders soll aus einer Polypeptidkette bestehen, welche schlängenförmig zusammengefaltet ist. Der Abstand zwischen den einzelnen gefalteten Kettenteilen beträgt 10,5 Å. Die Periode längs der Kette ist 5 Å. Aus der Dichte des

Kristalls und diesen beiden Perioden sowie der Kenntnis des durchschnittlichen Gewichtes eines Aminosäure-Restes wird abgeleitet, daß auf eine Länge von 5 Å drei Aminosäure-Reste in die Kette eingebaut sind. Wasserstoffbrücken sind nur längs der Ketten möglich⁶⁸.

Kendrew⁶⁵) zeigte, daß Pferde-Metmyoglobin monoklin kristallisiert und daß die Einheitszelle zwei Moleküle vom Molgewicht 17000 (etwa 140 Aminosäure-Reste) enthält. Die einzelne Molekül besteht laut Vektoranalyse aus vier stabförmigen Gebilden. Die Analogie der Myoglobin-Molekül zu einer einzelnen Schicht des Hämoglobin-Zylinders erstreckt sich auch auf den seitlichen Abstand der Stäbe (9,5 Å) und die Periode längs der Peptidketten parallel zur b-Achse in der (201)-Richtung (5 Å). Der Abstand zwischen den Kettenresten beträgt 14,5 Å. Das flache, aus vier Kettenteilen bestehende Gebilde ist 34 Å breit, jeder der coplanaren Kettenteile ist etwa 54 Å lang. Die Häm-Gruppen stehen senkrecht auf der Schichtebene und auf den Polypeptidketten. Bei der sehr verschiedenen Aminosäuren-Zusammensetzung der beiden Proteine dürfte ihre ähnliche biologische Funktion in erster Linie strukturell bedingt sein.

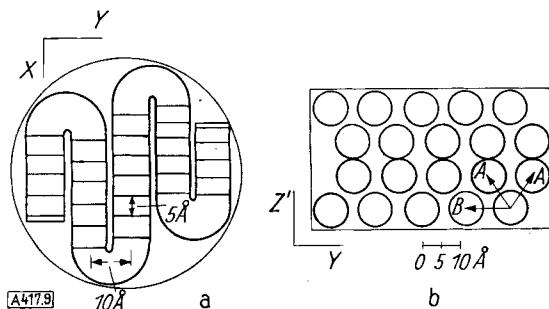


Bild 9. Strukturvorschlag für Hämoglobin nach M. F. Perutz⁶⁹). a) Ein basaler Schnitt durch den Zylinder mit einer gefalteten Peptidkette. b) Senkrechter Schnitt zur Veranschaulichung der Packung der Ketten

Neuerdings wurde von Kendrew⁶⁷⁾ eine neue monokline Modifikation gefunden, welche vier Moleküle in der Einheitszelle enthält.

Die beiden Perioden längs und quer zur Peptidkette in den Molekülen des Hämoglobins und Myoglobins (5 und 10–11 Å) stimmen auffallend gut mit den beiden wichtigsten Kleinperiodenreflexen des α -Keratins bzw. der α -Proteine überein (vgl. S. 297). Somit ist die Konstellation der Peptidketten in diesen kristallisierten und definierten Proteinen mit derjenigen in den unlöslichen, komplexen fibrillären Proteinen verwandt.

8. Keratinfasern⁶¹⁾

Unter den tierischen Faserkeratinen wurde die Wollfaser eingehend elektronenmikroskopisch untersucht. Die Wolle ist ein Aggregat aus Zellen und besteht zu über 90% aus den etwa 100 μ langen und 6 μ breiten Spindel- oder Cortexzellen. Im Elektronenmikroskop findet man, daß die einzelnen Zellen aus 1000–3000 Å breiten Fibrillen bestehen, die ihrerseits aus 100–400 Å breiten Mikrofibrillen aufgebaut sind^{81a, 72)}.

Nach Mercer⁷³⁾ sind die Mikrofibrillen mit einer Periode von 100–110 Å quergestreift und sollen in der Haarwurzel aus löslichen Partikelchen durch lineare Aggregation entstehen, wobei die Bindung durch Dehydrierung endständiger Sulfhydryl-Gruppen über Cystin-Brücken stabilisiert wird.

Die röntgenographischen Daten des α -Keratins, also der ungedehnten Keratinfasern, wurden bereits angeführt⁷⁴⁾. Man unterscheidet Kurz- und Langperiodenreflexe auf dem Röntgenogramm. Die Langperiode in Richtung der Faserachse beträgt 200 Å^{56, 76)}. Von dieser Periode sind zahlreiche höhere Ordnungen bekannt, so daß das Langperiodenröntgenogramm des α -Keratins zu den schönsten Diagrammen dieser Art gerechnet wird.

Auch auf dem Äquator von Röntgenaufnahmen tierischer Haare findet man eine Reihe von Kleinperiodenreflexen, deren größter einem Netzebenenabstand von 85–88 Å entspricht⁷⁶⁾. Die Seitenkettenperiode von 9,8 Å löst sich in der Langperiodenkammer in zwei Hauptreflexe von 10,5 und 9,2 Å auf⁷⁷⁾. Die wahre Einheitszelle des Keratins scheint 200 Å lang und 85 Å breit zu sein⁵⁶.

Beim Dehnen von Roßhaaren auf 60%, wobei das β -Keratin-Diagramm auftritt, wurden neue Langperioden auf dem Äquator entdeckt⁷⁸⁾, während die Meridianreflexe beim Dehnen verschwinden.

Die Langperiodenreflexe im Röntgenogramm von Menschenhaar scheinen von den Kurzperioden unabhängig zu sein, wie Versuche an nitriertem Haar gezeigt haben⁷⁹⁾. Es wird daher angenommen, daß der Seitenkettenreflex mit dem Abstand der Ketten in der Molekel, die Langperiode dagegen mit der Anordnung der ganzen Molekel zusammenhängt^{61, 80)}.

Die wichtigste Kurzperiode im Röntgenogramm unge dehnter tierischer Haare (5,1 Å) ist eine Funktion der Konstellation der Peptidketten in Richtung der Fibrillen. Eines der ersten Modelle von Astbury erklärt die Periode durch eine ebene Faltung von drei Aminosäure-Resten zu hexagonalen Pseudo-diketo-piperazin-Ringen¹⁴⁾.

Beim Dehnen der Faser verlängert sich diese im gleichen Maß, wie die Molekel entfaltet wird. Die maximale Verlängerung der Faltenkette beträgt 100%, bis nämlich drei Aminosäure-Reste eine Höhe von 10,2 Å (= 2 × 5,1 Å) einnehmen und zickzackförmig gestreckt sind (β -Keratin). Gegen die Identität der Faserbruttodehnung und der Molekelverlängerung wurden verschiedene Einwände geltend gemacht^{40, 81)}. Das 1941 publizierte Modell von Astbury bringt wiederum drei Reste in der Periode von 5,1 Å unter (man spricht von der α_{III} -Faltung⁸²⁾), wobei aber die stereochemischen Unzulänglichkeiten des ersten Modells vermieden werden. Charakteristisch sind Wasserstoffbrücken zwischen den Ketten^{82b)} (vgl. Bild 10).

Huggins⁴⁶⁾ hat eine eingehende stereochemische Analyse der Faltungsmöglichkeiten bei Peptidketten vorgenommen und hält die Modelle von Astbury nicht für richtig. Unter seinen neuen Modellen befindet sich eine α_{II} -Faltung mit

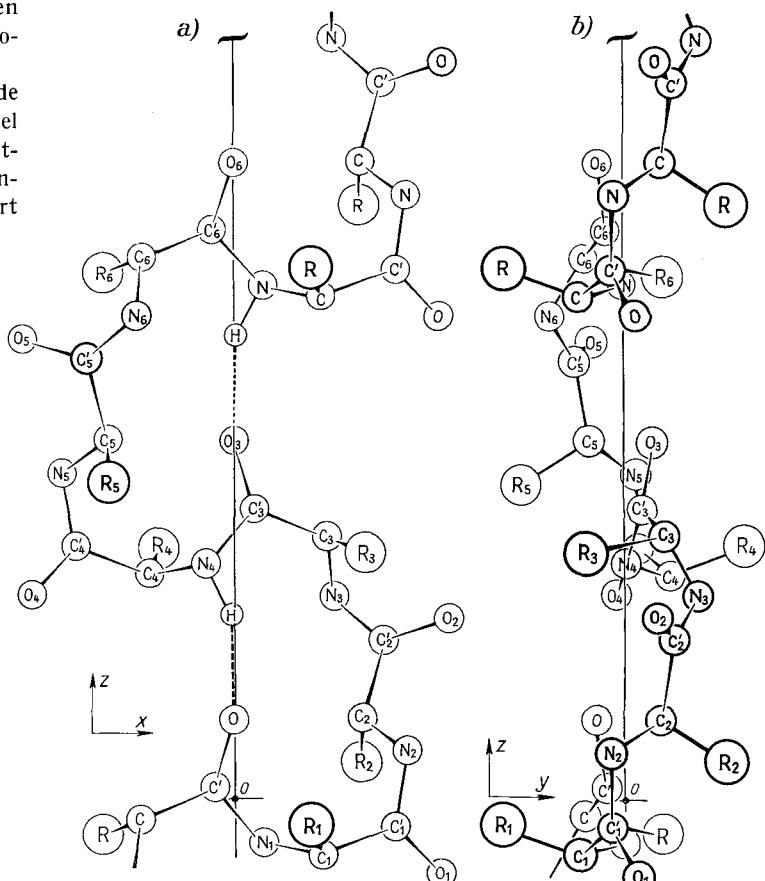


Bild 10. Projektionen der Polypeptidkette des Astbury-Modells (1941), L. Bragg, J. C. Kendrew und M. F. Perutz⁸³⁾

einer zweizähligen Schraubenachse und zwei Aminosäure-Resten je Windung. β -Keratin entsteht bereits nach einer Dehnung von 30%. Die Wasserstoff-Brücken liegen in den Ketten (intrachenar) und stabilisieren die Faltung, indem sie einen Siebenring bilden. Ohne Kenntnis dieser Arbeiten stellte der Referent ein sehr ähnliches Modell auf, bei dem jedoch die Seitenkettenreste R in Transstellung zu den umgeklappten Peptidbindungen angeordnet sind⁸⁴⁾ (Bild 11).

⁶¹⁾ H. Zahn, Dissert. Karlsruhe 1940.

^{62a)} H. Zahn, Melland Textilber. 22, 305 [1941]; 23, 157 [1942]; 24, 157 [1943].

^{62b)} C. H. Bamford, W. E. Hanby u. F. Happey, Nature [London] 164, 751 [1949].

⁶³⁾ W. T. Astbury u. F. O. Bell, Nature [London] 147, 696 [1941].

⁶⁴⁾ Proc. Roy. Soc. [London] A 203, 321 [1950].

⁷²⁾ Statt Mikrofibrillen findet man häufig den Begriff Prototubillen¹²⁹⁾.

⁷³⁾ Nature [London] 159, 535 [1947].

⁷⁴⁾ H. Zahn, Kolloidchem. Taschenb. 2. Aufl. 1943, S. 150.

⁷⁵⁾ O. Kratky u. A. Sekora, J. Makromol. Ch. 1, 113 [1943].

⁷⁶⁾ O. Kratky, Priv. Mitteilung 17, 1, 1945.

⁷⁷⁾ J. McArthur, Nature [London] 152, 38 [1943].

⁷⁸⁾ O. Kratky, Z. Naturforsch. 6b, 173 [1951].

⁷⁹⁾ H. Zahn u. K. Kohler, Z. Naturforsch. 5b, 137 [1950].

⁸⁰⁾ O. Kratky, H. Zahn u. O. Sekora, in Vorbereitung.

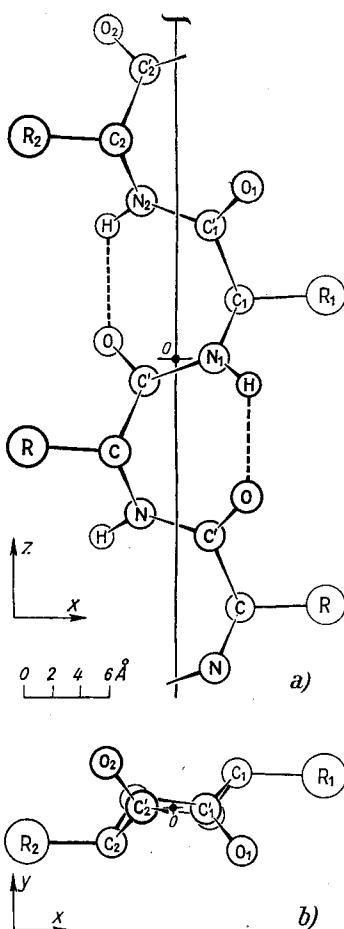


Bild 11. Projektionen der 2,b-Kette (Zahn sowie Ambrose und Hanby nach L. Bragg, J. C. Kendrew und M. F. Perutz⁸³)

lang der Kette durch intrachenare Wasserstoff-Brücken verbunden. Die Amid-Gruppe ist planar.

Bei der Dehnung des α -Keratins zum β -Keratin werden keine Drehungen der geräumigen Seitenkettenreste R erlaubt. Der Mechanismus der Umwandlung besteht lediglich in einem Umklappen der Peptidbindungen und einer Translationsbewegung der CO-CHR-NH-Teile.

Das Modell von Ambrose und Hanby⁸¹ ist mit der beschriebenen Faltung identisch. Diese Autoren^{82, 83} stützen sich auf ultrarotspektroskopische Messungen, welche für parallele Wasserstoff-Brücken in Bezug auf die Kettenrichtungsprechend (s. S. 298, vgl. auch⁸⁵). Dieses Modell wurde angegriffen^{84, 86}; Entgegnungen vgl.^{40, 42, 87}.

Das neueste und aussichtsreichste Modell für α -Keratin stammt von Pauling, Corey und Branson^{88, 89}. Diese nehmen eine Spiralkette an^{90, 91}. Die Periode beträgt 5,55 Å. Der 5,1 Å Meridianreflex entspricht einem Winkel maximaler Streuung der Spiralkette (Bild 11A). Auf eine Spirawindung entfallen 3,7 Reste. Somit beträgt die Translationsperiode eines Aminosäurerestes 5,55/3,7 oder 1,5 Å. Jeder Rest ist mit dem dritten ent-

Perutz fand kürzlich auf dem Meridian von Röntgenaufnahmen von Pferdehaar, Stachelschweinkel, Poly- γ -benzyl-L-glutaminsäure einen sehr deutlichen Reflex von 1,5 Å⁹². In jüngster Zeit hat Astbury bei sämtlichen α -Fasern der KMEF-Gruppe sowie bei allen α -Polypeptiden die meridionalen Reflexe bei 1,5 Å nachgewiesen. Nach Perutz sind damit alle früheren Modelle für α -Keratin hinfällig. Nur das Paulingsche Modell lässt einen Reflex von 1,5 Å erwarten^{44, 88, 89}.

Im Braggschen Institut wurde laut privater Mitteilung von Herrn Dr. M. Perutz soeben die dreidimensionale Fourier-Transform dieser Paulingschen Spiralkette berechnet. Zwischen den berechneten Intensitäten der Schichtlinien auf Röntgenaufnahmen synthetischer Polypeptide und den Messungen, welche Bamford und Mitarbeiter an derartigen Peptiden unternahmen, wurde eine frappante Übereinstimmung festgestellt. Somit kann an der Richtigkeit der Paulingschen Kette kein Zweifel mehr bestehen^{93a}.

9. Fibrin

Die Fibrinogen-Molekeln ist stäbchenförmig und 850 Å lang⁹⁴ bei einem Molgewicht von 540000. Andere Messungen führen zu Werten von 700 Å \times 35⁹⁵. Im Elektronenmikroskop wurden 600 Å lange Fibrinogen-Moleküle mit einer Perl schnurstruktur gefunden, wobei die Partikelchen 30 \times 40 Å groß sind⁹⁵.

Nach Zugabe von Thrombin entstehen aus den Fibrinogen-Molekülen im Verlaufe komplexer enzymatischer Reaktionen Aggregate. Zunächst nimmt die Länge mit der Zeit zu, wobei ein 2500 Å Zwischenprodukt (subunit) vom Molgewicht 4000000 entsteht. Erst später gerinnt das ganze System⁹⁶. Die Gerinnungszeit lässt sich durch Zusatz von Stärke oder Polyvinylalkohol verkürzen und durch Glycerin, Hexa- oder Pentamethylenglykol verlängern⁹⁷. Löst man Fibrin in sechsmolarer Harnstofflösung auf, so findet man Molgewichte in der Größenordnung des ursprünglichen Fibrinogens⁹⁴.

Man nimmt an, daß die Fibrinogen-Moleküle Ende an Ende und Seite an Seite aggregieren, sobald Thrombin zugefügt wird und die genannten Oxy-Verbindungen die Ausbildung von Nebenvalenzbindungen nicht verzögern.

Bei Liquorfibrin wurde 1940 die erste Querstruktur einer Proteinfaser elektronenmikroskopisch von Ruska und Wolpers¹⁷ entdeckt. Die Fibrillen scheinen aus 200–350 Å langen Teilchen zu bestehen. Die helleren Bereiche verlängern sich beim Spannen der Mikrofibrillen. Zwischen der Breite der Streifen und der Molekellänge wurden Beziehungen vermutet⁹⁸.

Hall⁹⁵ fand in normalem Fibrin feine, quergestreifte Fibrillen mit einer Translationsperiode von 230 Å (Rinderserum) bzw. 215 Å (menschliches Serum). Ferner wurden 30–50 Å große Partikelchen entdeckt, welche als die molekularen Einheiten der Mikrofibrille des Fibrins angesprochen wurden. Über die Deutung der Querstreifung vgl. ⁹⁹.

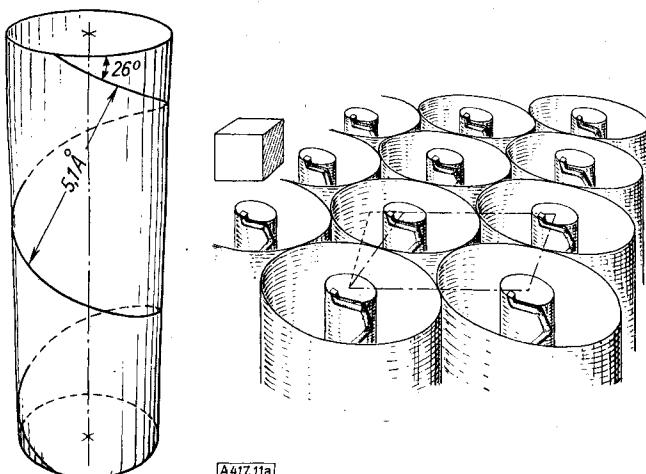


Bild 11A

Links: Schematische Darstellung der Schraubenkette mit 3,7 Aminosäure-Resten zur Veranschaulichung des Ursprungs des Meridianreflex 5,15 Å des α -Keratin-Röntgenogramms. Rechts: Schema der α -Keratin-Struktur (Nach Pauling u. Corey⁸⁹).

- ⁸⁵) Bull. Chem. Soc. Japan 21, 1 [1948].
- ⁸⁶) W. T. Astbury, Nature [London] 164, 439 [1949].
- ⁸⁷) Proc. Roy. Soc. [London] A 205, 30 [1954].
- ⁸⁸) J. Amer. Chem. Soc. 72, 5349 [1950].
- ⁸⁹) Proc. Natl. Acad. Sci. [USA] 37, 235, 241, 261 [1951].
- ⁹⁰) Über die Vorstellung, wonach Polypeptidketten im Eiweiß in Form von parallelen Spiralen vorliegen, vgl. ^{12, 46, 91}.
- ⁹¹) C. F. Kraft, Spiral Molecular Structures the Basis of Life, 1927, Washington.

⁹²) Nature [London] 167, 1053 [1951]; 168, 653 [1951].

⁹³) R. B. Corey, Vortrag 120. Meeting Amer. Chem. Soc. New York 4. 9. 1951.

⁹⁴a) W. Cochran u. F. H. C. Crick, Nature [London] 169, 234 [1952]; C. H. Bamford, L. Brown, A. Elliot, W. E. Hanby u. J. F. Trotter, ebenda 169, 357 [1952].

⁹⁴) R. F. Steiner u. K. Laki, J. Amer. Chem. Soc. 73, 882 [1951]. R. F. Steiner, Science [New York] 114, 460 [1951].

⁹⁵) C. E. Hall, J. Biol. Chemistry 179, 857 [1949], 185, 45 [1950].

⁹⁶) A. L. Copley, diese Ztschr. 63, 75 [1951].

⁹⁷) J. D. Ferry u. S. Shulman, J. Amer. Chem. Soc. 71, 3198 [1949].

⁹⁸) C. Wolpers, Grenzgebiete d. Med. 2, 527 [1949].

⁹⁹) F. O. Schmitt, Fed. Proc. 8, 530 [1949].

Bis jetzt wurden keine Langperiodenröntgenreflexe bei Fibrin gefunden. Die gewöhnlichen Röntgenreflexe des Fibrinogens und Fibrins sind typisch für α -Proteine^{100, 101}.

Da Fibrinogen und Fibrin in der Aminosäure-Zusammensetzung bis auf einige zusätzliche Amino-Gruppen im Fibrin – bei der Fibrin-Bildung wird ein Peptid abgespalten¹⁰² – sehr ähnlich sind und intramolekulare Veränderungen bei der Blutgerinnung nach den angeführten Röntgenuntersuchungen nicht wahrscheinlich sind, dürfte Fibrin durch eine geordnete Aggregation der Fibrinogen-Moleküle entstehen.

10. Tropomyosin¹⁰³)

Auch Tropomyosin ist ein α -Protein und wurde von Bailey aus Muskeln mit Salzlösungen in einer Ausbeute von 0,5% extrahiert¹⁰⁴). Das aus verdünnter Salzlösung kristallisierte Tropomyosin enthält 90% Wasser, hat ein Molgewicht von 90000 und ist in der Ultrazentrifuge homogen. Das Reibungsverhältnis 0,6 proz. Lösungen beträgt 3,1. Tropomyosin ist demnach sehr unsymmetrisch. Nach seiner Aminosäure-Zusammensetzung (Tab. 6) kommt

Aminosäuren in Gewichts-%	Tropomyosin	Myosin
Cystin/2	0,76	1,4
Methionin	2,8	3,4
Tyrosin	3,1	3,4
Tryptophan	—	0,8
Glykokoll	0,4	1,9
Alanin	8,8	6,5
Valin	3,1	2,6
Leucine	15,6	15,6
Phenylalanin	4,6	4,3
Prolin	1,3	1,9
Serin	4,4	4,3
Threonin	2,9	5,1
Histidin	0,85	2,4
Arginin	7,8	7,4
Lysin	15,7	11,9
Glutaminsäure	32,9	22,1
Asparaginsäure	9,1	8,9
Amidstickstoff	0,89	1,2
Summe	113,7	104,0

Tabelle 6. Aminosäure-Zusammensetzung von Tropomyosin und Myosin nach Bailey⁶³)

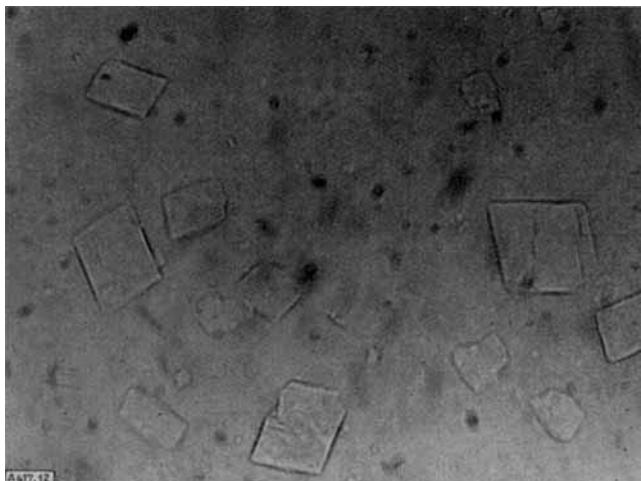


Bild 12

Tropomyosin-Kristalle aus Kaninchennmuskel (240:1) nach Bailey⁵³)
Das Originalphoto wurde uns freundl. von Prof. Bailey zur Verfügung gestellt

¹⁰⁰⁾ J. R. Katz u. A. de Rooy, Naturwiss. 21, 559 [1933].
¹⁰¹⁾ K. Bailey, W. T. Astbury u. K. Rudall, Nature [London] 151, 716 [1943].

¹⁰²⁾ J. T. Edsall, Vortrag 120. Meeting Amer. Chem. Soc. New York 5, 9, 1951.

¹⁰³⁾ K. Bailey, J. Int. Soc. Leather Trade Chem. 32, 18 [1948].

¹⁰⁴⁾ K. Bailey, H. Gutfreund u. A. G. Ogston, Biochemic. J. 43, 279 [1948].

diesem Protein Myosin-Charakter zu. Auch die Löslichkeitsverhältnisse sprechen für ein Globulin. Tropomyosin geht nach Entfernung von Mineralsalzen in 200–300 Å breite Mikrofibrillen über. Nach Zusatz von Kaliumchlorid zerfallen die Fibrillen in lösliches Tropomyosin. Beide Modifikationen, kristallines (Bild 12) sowie fibrilläres (Bild 13) Tropomyosin liefern α -Keratin-Röntgenogramme⁶⁰). Bei der reversiblen Umwandlung Kristall-Fibrille wird demnach wie beim Fibrinogen-Fibrin die interne Anordnung der Peptidketten nicht geändert.

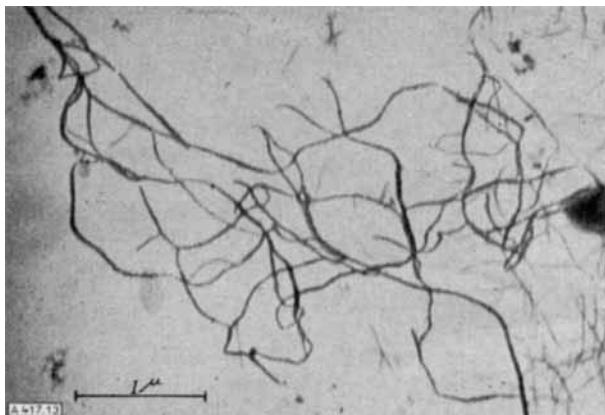


Bild 13
Tropomyosin-Fibrillen aus wässriger Lösung niedergeschlagen nach Astbury, Reed u. Spark⁶⁰). Das Original der Aufnahme wurde freundl. von Prof. Astbury zur Verfügung gestellt. Vergröß. 17000 fach

Tropomyosin ist das erste Mitglied der KMEF-Gruppe, welches sowohl in Faser- als auch in kristalliner Form erhalten wurde. Tropomyosin ist wahrscheinlich eine Vorstufe des Myosins. Dafür spricht auch die Tatsache, daß Myosin in Harnstoff-Lösung in Bruchstücke von ähnlichem Molgewicht wie Tropomyosin zerfällt.

11. Actin

Actin wurde erstmalig von Szent-Györgyi und seinen Mitarbeitern^{105, 106, 107}) aus Muskeln durch Extraktion mit Edsallscher Salzlösung isoliert und besitzt ein Molgewicht von 70000. Das aus getrocknetem Muskel isolierte Actin ist niedrigviscos und geht nach Zugabe von 0,1 n Kaliumchlorid-Lösung unter Zunahme der Viscosität in kurzer Zeit in fibrilläres Actin über¹⁰⁸). Das fibrilläre Actin (F-Actin) zeigt im Elektronenmikroskop feinste Fäden. In diesem scheinen 300 Å lange und 100 Å breite ellipsoide Teilchen vorzukommen, die aus 20 G-Actinmolekülen aufgebaut sind.

Die Moleküle des niedrigviscosen Actins sind korpuskular und aggregieren linear Ende an Ende zum fibrillären F-Actin¹⁰⁹).

F-Actin wurde von Astbury^{109, 110}) röntgenographisch untersucht und gefunden, daß im Gegensatz zu Myosin kein α -Diagramm vorliegt, sondern daß die Meridianreflexe sowie die beiden diffusen Äquatorreflexe am besten durch eine Art Federkeratinstruktur gedeutet werden können.

Da die Umwandlung G-F-Actin reversibel unter sehr milden Bedingungen verläuft, wird allgemein die Korpuskulartheorie angewendet¹¹¹).

¹⁰⁵⁾ Banga u. A. Szent-Györgyi, Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 1, 5 [1941/42].

¹⁰⁶⁾ F. B. Straub, Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 2, 3 [1942]; 3, 23 [1943].

¹⁰⁷⁾ Szent-Györgyi: Chemistry of muscular contraction Academic Press (1947).

¹⁰⁸⁾ G. Rosza, A. Szent-Györgyi u. R. W. G. Wyckoff, Biochim. Biophys. Acta 3, 561 [1949].

¹⁰⁹⁾ W. T. Astbury, S. V. Perry, R. Reed u. L. S. Spark, Biochim. Biophys. Acta 1, 379 [1947].

¹¹⁰⁾ W. T. Astbury, Nature [London] 160, 388 [1947].

¹¹¹⁾ M. A. Jakus u. C. E. Hall, J. biol. Chemistry 187, 705 [1947].

12. Insulin^{112, 113)}

Die Insulin-Moleköl ist das chemisch am besten untersuchte Protein. Das Molgewicht beträgt 12000. Eine Moleköl enthält nach Chibnall und Sanger¹¹⁴⁾ 106 Aminosäure-Reste, welche in vier Ketten unterzubringen sind, die ihrerseits durch sechs Cystin-Brücken zusammengehalten werden. Nach Oxydation der Cystin-Brücken mit Perameisen-säure erhält man zwei Kettenteile mit einer Phenyl-alanyl-Amino-Endgruppe und zwei Ketten mit einer Glycin-Endgruppe. Die restlose Bestimmung der Reihenfolge der 30 Aminosäuren der Phenylalanylketten durch Sanger und Tuppy⁶⁾ wurde eingangs besonders hervorgehoben.

Kristallisiertes Insulin hat mit 30 Vol% den niedrigsten Flüssigkeitsgehalt unter den globulären Proteinen, Tropomyosin mit 90 Vol% den höchsten. Die Flüssigkeit dringt nicht in die Moleköl ein¹¹⁵⁾.

In neutraler Lösung aggregieren vier Moleköl vom Molgewicht 12000 zu einem Partikel mit dem Molgewicht 48000. Auch wurden Assoziate aus 6–9 Teilchen beobachtet¹¹⁶⁾. In alkalischer oder saurer Lösung desaggregieren die Partikelchen wieder. Das kristallisierte Insulin besteht laut röntgenographischer Analyse aus Partikelchen des Molgewichtes 36000 (vgl. hierzu¹¹⁷⁾). Nativem Insulin wird α -Proteinstruktur auf Grund ultrarotspektroskopischer Untersuchungen zugeschrieben³⁹⁾.

Bemerkenswerterweise entsteht aus löslichem Insulin nach längerem Erhitzen in verdünnten Säuren (p_H 2,0–2,5) fibrilläres Insulin. Die Mikrofibrillen sind 150 Å breit und 20000 Å lang. Durch Einwirkung alkalischer Lösungen kann biologisch aktives Insulin zurückgewonnen werden⁵⁸⁾.

13. Seidenfibrin

Die Naturseide wird von der Seidenraupe, z. B. *Bombyx mori* als interzelluläre Substanz ausgesponnen und besteht aus einem Doppelfaden (Fibroin), welcher durch den sog. Seidenleim (Sericin) verklebt und umhüllt ist. Behandelt man unlösliches Fibroin mit einer Lösung von Kupfer(II)-äthylendiamin, so erhält man nach dem Neutralisieren und Dialysieren ein wasserlösliches Protein, sog. Fibroinogen, ein globuläres Protein mit dem Molgewicht 30–33000, welches dem natürlichen in der Raupendrüse vorhandenen Fibroinogen entsprechen soll und als renaturiertes Fibroin aufgefäßt wird^{117a)}. Protein-Fällungsmittel bilden aus dem globulären Fibroinogen wieder unlösliches fibrilläres Fibroin. Aber auch bereits beim Strecken der ursprünglich wasserlöslichen Filme von renaturiertem Fibroin werden wasserunlösliche Proteine erhalten⁵⁴⁾. Dieses Unlöslichwerden wird als Denaturierung bei Lösung der Makrofaltung des globulären Proteins aufgefäßt und die Peptidketten-Theorie der Faserproteine angewendet (vgl. Bild 4). Andere Autoren halten eine Aggregation des Fibroinogens ohne Entfaltung für wahrscheinlicher.

Im Elektronenmikroskop wurden 40–80 Å feine Mikrofibrillen, 250–500 Å breite Fibrillen und gröbere Fibrillenpakete gefunden^{118, 119)}. Eine Querstreifung von 240 Å wurde andeutungsweise beobachtet, jedoch nicht gesichert.

Das Kleinperiodenröntgenogramm der Seide ist von allgemeiner Bedeutung für die Proteinforschung, da der Meridianreflex von 3,5 Å mit der berechneten Länge eines Aminosäure-Restes gut übereinstimmt. Auch ist der Abstand benachbarter Ketten in Richtung der α -Achse

¹¹²⁾ F. Sanger, Biochemic. J. 45, 563 [1949].

¹¹³⁾ F. Sanger, Vortrag 120. Meeting Amer. Chem. Soc. New York 4.9.1951.

¹¹⁴⁾ A. C. Chibnall, Proc. Roy. Soc. [London] B 131, 136 [1942].

¹¹⁵⁾ D. Crowfoot u. D. P. Riley, Nature [London] 144, 1011 [1939].

¹¹⁶⁾ O. Kratky, J. Polymer. Sci. 3, 195 [1948].

¹¹⁷⁾ B. W. Low, Cold Harbor Symposia on quant. Biol. 14, 77 [1950].

^{117a)} B. Drucker u. S. E. Smith, Nature [London] 165, 196 [1950].

¹¹⁸⁾ H. Zahn, Kolloid-Z. 112, 91 [1949].

¹¹⁹⁾ R. Hegeschweiler, Makromol. Chem. 4, 156 [1949].

(4,82 Å) mit dem berechneten Abstand identisch, wenn die Ketten in einem flachen Rost durch Wasserstoff-Brücken zusammengehalten werden (vgl. Bild 2). Die Seide ist demnach ein typisches β -Protein¹²⁰⁾.

Der getrocknete Drüsengehalt des Seidenwurmes *Bombyx mori* liefert ein anderes Röntgenogramm als Seidenfibrin. Die neue Modifikation wird von Kratky¹²¹⁾ Fibroin I genannt und geht beim Dehnen gequollener Präparate in das normale Fibroin II über. Fibroin I scheint röntgenographisch dem Actin zu gleichen.

Somit kann auch Seidenfibrin in mehreren röntgenographischen Modifikationen vorkommen.

Auf die Anwendung von polarisiertem Ultraviolettlicht nach der Methode von Scheibe¹²²⁾ auf feinbauliche Fragestellungen beim Fibroin durch Arbeiten der Kratkyschen Schule sei besonders hingewiesen^{123, 124)}.

14. Kollagen (vgl.¹²⁵⁾)

Die Kollagenfasern der Haut und des Bindegewebes bestehen aus einachsig stark doppelbrechenden, etwa 5000 Å breiten, im Lichtmikroskop erkennbaren Fibrillen¹²⁷⁾. F. O. Schmitt und Mitarbeiter^{128, 129)} sowie unabhängig von diesen Wolpers^{18, 130)} fanden elektronenmikroskopisch, daß diese Fibrillen aus noch feineren, etwa 800 Å breiten Fibrillen aufgebaut werden. In der Richtung der Fibrillen wurde die deutlichste Querstreifung aller bisher untersuchten Faserproteine gefunden. Die Periode, also die Höhe eines hellen und eines dunklen Teiles (H- bzw. D-Teil) beträgt im Mittel 640 Å, vgl. Bild 14.

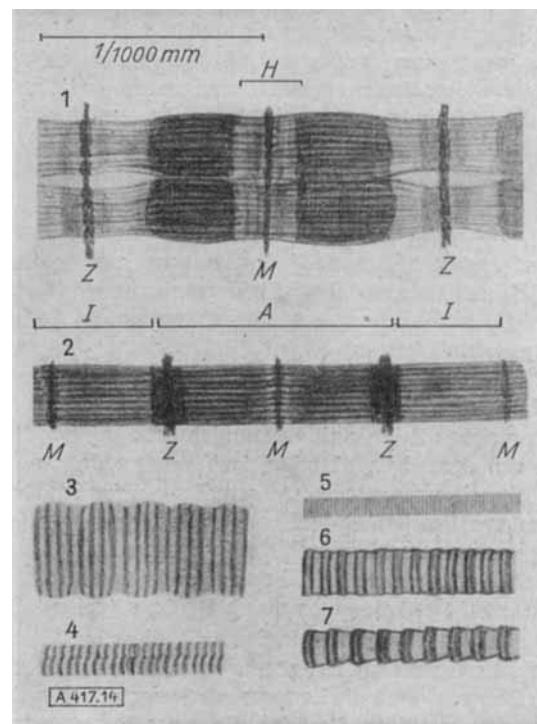


Bild 14. Proteinfibrillen (30000:1) nach H. Ruskai B. v. Borries¹³¹⁾

- 1) Zwei quergestreifte, nicht kontrahierte Muskelfibrillen
- 2) Eine kontrahierte quergestreifte Muskelfibrille
- 3) Querstreifung des Trichozystenschaftes 4) Fibrin
- 5) Glatte Muskulatur der Muschel *Venus mercenaria*
- 6) Ungedehnte Kollagenfibrille 7) Gedehnte Kollagenfibrille

¹²⁰⁾ R. Brill, Z. physik. Chem. B 53, 61 [1943]. ¹²¹⁾ O. Kratky, E. Schauenstein u. A. Sekora, Nature [London] 165, 319 [1950].

¹²²⁾ G. Scheibe, Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. 49, 372 [1943].

¹²³⁾ E. Schauenstein, J. O. Fixl u. O. Kratky, Mh. Chemie 80, 143 [1949].

¹²⁴⁾ E. Bürgermeister u. E. Schauenstein, Mh. Chemie 80, 145 [1949].

¹²⁵⁾ J. H. Bowes, Research 4, 155 [1951].

¹²⁷⁾ A. Küntzel, Kolloid-Z. 66, 273 [1941].

¹²⁸⁾ J. Gross u. F. O. Schmitt, J. exp. Med. Biol. 88, 555 [1948].

¹²⁹⁾ O. F. Schmitt, C. E. Hall, M. A. Jakus, J. Cellular Comp. Phys. 20, 11 [1942].

¹³⁰⁾ C. Wolpers, Klin. Wschr. 22, 624 [1943]; Virchows Arch. 312, 292 [1944].

¹³¹⁾ B. v. Borries: D. Übermikroskopie, Einführung, Untersuch. ihrer Grenzen u. Abriß ihrer Ergebnisse. Aulendorf, 1949.

Der D-Teil besteht aus schmalen delta-Scheiben, die sich durch Formfestigkeit, Affinität zu Schwermetallen, geringeren Wassergehalt, größere Dichte und Dicke vom H-Teil unterscheiden. Nach Säurequellung werden die delta-Scheiben zu einem einheitlichen D-Teil zusammengezogen. Die Periode verkürzt sich auf 70 % und die Fibrillen verbreitern sich sehr stark¹³²). Diese Einteilung in H- und D-Teil mußte später revidiert werden, als man elektronenmikroskopisch fand, daß auf eine Langperiode von etwa 640 Å fünf-sieben Einzelbanden („bands“) entfallen, welche Phosphorwolframsäure und andere Gerbstoffe bevorzugt aufnehmen und im Elektronenmikroskop dunkel erscheinen. Zwischen den „bands“ erkennt man helle „interbands“ (vgl. F. O. Schmitt u. J. Groß, J. Amer. Leather Chem. Assoc. 43, 658 [1948]). Die Banden werden von Bear und Mitarbeitern (vgl.¹³⁷) als Bereiche geringerer Ordnung und erhöhter Zugänglichkeit für Chemikalien, die „interbands“ als die geordneten Teile der Fibrille (Ursprung des normalen Röntgenogramms) aufgefaßt.

Behandelt man Kollagen mit Citratpuffer¹³³) und trocknet den sauren Auszug ein, so findet man im Elektronenmikroskop 50 Å dünne Fäden ohne Querstreifung. Nach Zugabe von Salzen erscheinen Perioden von 200 bzw. 640 Å. Vereinzelt wurden 2000–3000 Å lange Banden angetroffen, die aus 8–9 Streifen bestehen. Fügt man zu dem sauren Extrakt von Kollagen 10 % eines bestimmten Mucoproteins zu, so erhält man nur diese Superperiodenquerstreifung. Bei Zugabe von nur 1% Mucoprotein in Bezug auf Kollagen fallen Fibrillen an, welche teilweise die normale Querstreifung, teilweise die Superperioden aufweisen. Bei einem Verhältnis zwischen Mucoprotein und Kollagen von 1:10000 findet man nur noch strukturlose feinste Fäden. Offensichtlich enthält Kollagen außer dem Proteint-Anteil noch andere Komponenten, welche für das Zustandekommen der Querstreifung wesentlich sind¹³⁴). (Über die Rolle des Chondroitinsulfates vgl.^{134a})).

Man vermutet, daß die Zellen zunächst ein Prokollagen^{134b}) aufbauen, welches sich unter dem Einfluß der interzellulären Umgebung in Kollagen umwandelt. Zwischen embryonalem Sehnenkollagen (Präkollagen) und reifem Kollagen wurden röntgenographische und ultraviolett-spektroskopische Unterschiede gefunden¹³⁵).

Zur gleichen Zeit als die erstaunlich gut ausgeprägte und nach den damaligen Theorien, insbesondere der Fransenmizelltheorie unerwartete Querstreifung gefunden wurde, entdeckten Bear¹³⁶) sowie Kratky und Sekora¹³⁷) im Röntgenogramm verschiedener Kollagenfasern eine Langperiodeninterferenz in Faserrichtung bei 642 Å und mehrere höhere Ordnungen dieses Reflexes (vgl. Bild 15).

Kaesberg und Mitarbeiter finden an Rindersehnenkollagen einen sehr intensiven Langperiodenreflex von 675 Å^{138a}). Nach Bear schwankt die Langperiode je nach der physikalischen und chemischen Vorbehandlung der Proben zwischen

¹³²) C. Wolpers, Klin. Wschr. 28, 317 [1950].

¹³³) J. H. Highberger, J. Groß u. F. O. Schmitt, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3321 [1950]; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 37, 286 (1951).

¹³⁴) F. O. Schmitt, Vortrag 120. Meeting Amer. Chem. Soc. New York 6, 9, 1951.

^{134a}) S. M. Partridge, Biochemic. J. 43, 387 [1948].

^{134b}) S. E. Bresler, P. A. Finogenov u. S. Y. Frenkel, Chem. Abstr. 1950, 9493.

¹³⁵) O. Kratky, M. Ratzenhofer u. E. Schauenstein, Protoplasma 39, 684 [1950].

¹³⁶) R. S. Bear, J. Amer. Chem. Soc. 66, 1297 [1944]; vgl. ebenda 64, 727 [1942].

^{136a}) P. Kaesberg, H. N. Ritland u. W. W. Beaman, Physic. Rev. 74, 71 [1948].

¹³⁷) O. E. A. Bolduan u. R. S. Bear, J. Polymer Sci. 5, 159 [1950]; vgl. auch R. S. Bear u. O. E. A. Bolduan, J. Appl. Physics 22, 191 [1951]. R. S. Bear, O. E. A. Bolduan u. T. P. Salo, J. Amer. Leather Chemist Ass. 46, 107, 124 [1951].

680 und 550 Å. Die Kurzperioden des Röntgenogramms bleiben hierbei auffallend konstant und stammen offensichtlich nur von Teilen der die Langperiode aufbauenden Materie, nämlich den „interbands“. Quer zur Fibrillenrichtung wurden keine Langperioden festgestellt¹³⁷). Daher wird angenommen, daß die Kollagenfibrille aus langgestreckten, 12–17 Å breiten Peptidketten in paralleler Packung besteht.



Bild 15

Langperiodenröntgenogramm von Känguruhschwanzsehne nach zwei Monate langer Quellung in Wasser. Unter Spannung getrocknet. Kammer mit Lochblende. Nach Bear¹³⁷)

Zur Deutung der Langperioden des Kollagens liegen folgende Vorschläge vor¹³⁸).

- 1) Durchlaufende gestreckte Ketten durchziehen die H- und D-Teile. Die Unterschiede in der Durchstrahlbarkeit für Elektronen beruhen auf einer Anreicherung schwerer Aminosäuren im D-Teil¹³⁹).
- 2) Es liegen Ketten vor, welche in länglichen Schlaufen stark gefaltet sind und deren Packungsdichte im D-Teil erhöht ist¹⁴⁰.
- 3) Die Fibrillen bestehen nicht aus Kettenmolekülen, sondern aus periodisch in Serie verknüpften Blockmolekülen.

Bear hat auf der Grundlage neuester Befunde ein neues Modell aufgestellt¹⁴²). Auf eine Translationsperiode von 640–670 Å erstreckt sich eine 12–17 Å breite Polypeptidkette aus 670–735 Aminosäuren (Molgewicht 62–70000). Die sperrigen z. B. basischen und sauren Aminosäuren verhindern eine kristalline Anordnung in den Banden. In den „interbands“ besteht die Kette in der Hauptsache aus leichten Aminosäuren, so daß sich hier ein dichteres, kristallines Gefüge bilden kann. Die durchlaufenden Ketten sind nicht gestreckt, sondern spiralförmig gewunden und gehen bei völligem Aufdrehen der Spiralkette in eine 2400–2600 Å lange Anordnung über. Auf diese Weise kann man die elektronenmikroskopische Superperiode bestimmter Kollagenpräparate deuten. Die Quellung der Fibrille und Zunahme der Periode wird auf eine Aufweitung der Spiralkette in den Banden zurückgeführt. Die Verkürzung der Fibrille bei Säurequellung beruht auf elektrischen Kräften.

¹³⁸) F. O. Schmitt, Adv. Protein Chemistry 1, 25 [1944].

¹³⁹) H. Ruska u. H. Zahn, Über den periodischen Bau des Kollagens u. and. Faserproteine, unveröffentl. Manuskript 11. 6. 1948.

¹⁴⁰) M. L. Huggins, Vortr. 120. Meeting Amer. Chem. Soc. New York 4, 9, 1951.

¹⁴¹) H. Zahn, Kolloid-Z. 111, 96 [1948].

¹⁴²) R. S. Bear, 120. Tag. Amer. Chem. Soc. New York 5. 9. 1951.

Unter den Kurzperioden des Kollagenröntgenogramms wurde früher dem Meridianreflex bei 2,88 Å besondere Aufmerksamkeit gewidmet^{143), 144)} (vgl. Bild 16).

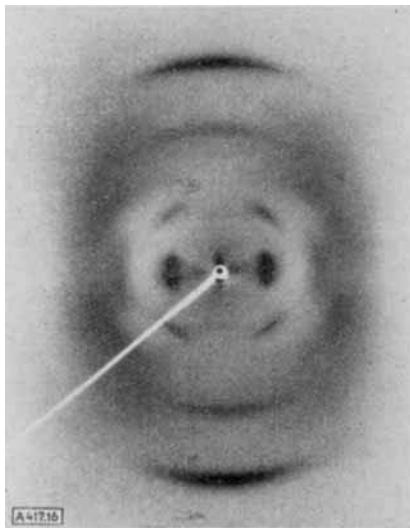


Bild 16
Faserröntgenogramm von Kollagen nach Bear¹⁴⁷⁾

Auf dem Äquator findet man einen starken Reflex, dessen zugehöriger Netzebenenabstand je nach dem Wassergehalt des Präparates zwischen 10,7 und 17,4 Å schwankt¹⁴⁵⁾. Nach Astbury ist jeder dritte Rest Prolin oder Oxyprolin, und 2,88 Å wird als die Höhe eines Aminosäure-Restes entlang der Peptidkette aufgefaßt, so daß eine schwache Faltung der Kette resultieren muß. Auf derselben Grundannahme der molekularen Deutung des 2,88 Å Reflexes beruhen die Modelle von Huggins¹⁴⁶⁾, Zahn¹⁴¹⁾ und Ambrose und Elliott¹⁴⁹⁾.

Völlig anders geht Bear vor. Schon Herzog und Jancke¹⁴⁶⁾ haben aus den Schichtlinien des Kollagenröntgenogrammes eine Translationsperiode von 20 Å berechnet. Es wurden nun weitere Schichtlinien gefunden und diese Auswertung bestätigt. Auf 20 Å werden sieben mal drei Aminosäure-Reste untergebracht. Da jeder dritte Rest aus Glycin besteht, muß die siebte Ordnung von 20 Å mit 2,88 als starker Reflex auf dem Röntgenogramm erscheinen. Die Translationsperiode eines einzelnen Aminosäure-Restes beträgt demnach nicht wie früher angenommen 2,88 sondern 0,95 Å. Somit ist Kollagen noch stärker verkürzt als α -Keratin. Die Kollagenkette bildet eine Spirale, welche maximal auf die vierfache Länge gestreckt werden kann. Wie bereits erwähnt läßt sich so die Dehnung der Kollagenfibrille und das Auftreten der Superperiode von 2400 Å deuten. Über die Abmessungen des oben ebenfalls erwähnten Prokollagens machen Bresler und Mitarbeiter^{144b)} folgende Angaben: Länge und Breite der Molekel 380 und 17 Å. Molgewicht 70000. Zahl der Aminosäure-Reste 600. Länge des vollausgedehnten Prokollagens 2400 Å. Auf den Handbuchaufsatzen von R. S. Bear über Kollagen, der im nächsten Band von „Advances of Protein Chemistry“ erscheinen wird, sei besonders hingewiesen.

¹⁴³⁾ G. L. Clark u. J. A. Schaad, Radiology 27, 339 [1936].

¹⁴⁴⁾ O. Gerngross u. J. R. Katz, Kolloid-Z. 39, 181 [1926].

¹⁴⁵⁾ W. T. Astbury, J. Int. Soc. Leather Trade Chem. 24, 69 [1940]; Nature [London] 145, 421 [1940].

¹⁴⁶⁾ R. O. Herzog u. W. Jancke, Ber. dtsh. chem. Ges. 53, 2162 [1920].

15. Schlußfolgerungen

Die Nomenklatur der Proteine erscheint nach dem beschriebenen experimentellen Material korrektionsbedürftig. Wenn man z. B. in globuläre und fibrilläre Proteine einteilt, wird man einigen Proteinen nicht gerecht, welche wie Insulin oder Actin je nach den Reaktionsbedingungen in einer globulären oder fibrillären Form vorliegen.

Die Einteilung der fibrillären Proteine in die KMEF-Klasse und die Kollagen-Gruppe auf Grund des elastischen Verhaltens und der reversiblen α - β -Umwandlung ist ebenfalls überholt¹⁴⁷⁾. Kollagen kann bis auf die drei- bis vierfache Länge gedehnt werden und dürfte in diesem Zustand eine β -Struktur besitzen. Das native Kollagen ist offenbar noch stärker gefaltet als die α -Proteine. Da die sog. globulären kristallinen Proteine in ihrer Gestalt meist von der Kugelform erheblich abweichen, ist ein neuer Ausdruck erwünscht.

Der Ausdruck fibrilläres Fibroin ist berechtigt. Hatte man früher den Unterschied zwischen einem globulären und einem fibrillären Protein in der Gestalt der einzelnen Peptidketten gesehen (gefaltet bzw. gestreckt), so weiß man heute, daß in einigen fibrillären Proteinen (Fibrin, α -Keratin) die einzelnen Ketten ebenso stark gefaltet sind wie in einem globulären Protein. Andererseits scheinen die globulären Proteine in kleinsten Bereichen eine ähnliche Kettenstruktur zu besitzen wie fibrilläre Proteine. Der Unterschied wird daher auf die Art, in welcher die sehr ähnlichen Moleküle aggregieren, zurückgeführt. In den globulären Proteinen bilden die gefalteten Ketten einzelne Schichten einer Molekel. Diese Schichten oder einfache Schichtaggregate („Molekeln“) bilden die Bausteine eines dreidimensionalen Gitters (Molekulgitter). In den fibrillären Proteinen F-Actin oder F-Insulin sind derartige Moleküle linear aggregiert und bauen eine Mikrofibrille auf. Vielfach findet auch eine mehr oder weniger geregelte seitliche Aggregation statt. Hier sind die einzelnen Bausteine, im Gegensatz zum Molekulgitter, nicht mehr individuell. Der Aufbau aus Molekülen ist durch den Nachweis von Langperiodenreflexen im Röntgenogramm oder Dichteunterschieden im elektronenmikroskopischen Bild (Querstreifung) zu erkennen.

Vielfach ist die Bindung zwischen den Einheiten, z. B. in Faserrichtung, sehr stark und wird wohl durch Hauptvalenzen (Cystin-Brücken bei Keratin), oder durch den Einbau einer zweiten Komponenten (Kohlehydrate) besorgt.

Ob man sich die Bildung eines Faserproteins im Sinne der Peptidkettentheorie oder der Korpuskulartheorie vorstellt, dürfte keinen allzu großen Unterschied ausmachen. Bei der Peptidketten-Theorie sind die Einheiten Kettenmoleküle. Seitliche Perioden fehlen (Kollagen). Die ausgeprägte Langperiodenstruktur beweist jedoch eine sehr regelmäßige Aggregation der Ketten, die keine Fransenmizellen bilden. Berücksichtigt man ferner, daß die Kollagenkette die Form einer Spirale besitzt, wobei ein Aminosäure-Rest nur 1 Å lang ist, so findet man, daß die Aminosäuren-Konzentration entlang der Spiralkette des Kollagens dieselbe ist wie die eines Bündels aus 3–4 gestreckten Peptidketten. Daher unterscheidet sich eine solche Spiralkette nicht mehr wesentlich von einer sog. korpuskularen Einheit. Unter einer solchen kann man sich z. B. eine einzelne Schicht des Hämoglobin-Zylinders vorstellen. Die Aggregation von 9 rechteckig deformierten Schichten zu einer größeren Einheit der Länge 200 Å und der Breite 90 Å wurde in Bild 5 veranschaulicht.

¹⁴⁷⁾ K. H. Meyer, Nature [London] 164, 33 [1949].

Dieses Schema soll die Langperiodenreflexe des α -Keratins deuten. Das Langperiodengitter ist eine Funktion von Höhe und Breite der Untereinheiten und ihrer Anordnung in der Mikrofibrille (Langperiodengitter als unvollkommenes Molekulgitter). Das Kleinperiodenröntgenogramm beruht auf der Beugung der Röntgenstrahlen an den Ketten im Innern der Einheit. Diese Ketten liegen parallel zur Fibrillenachse und verursachen entsprechend ihrer spezifischen Kurzfaltung Reflexe auf dem Meridian des Röntgenogramms. Die Abstände der Ketten werden aus der Geometrie der Äquatorröntgenreflexe abgeleitet.

Bei der Denaturierung werden Wasserstoff-Brücken gelöst (vgl.¹⁴⁸). Es handelt sich um intrachenare Brücken, welche die Mikrofaltung in den Ketten stabilisieren. Es bilden sich neue Wasserstoff-Brücken zwischen den Ketten in der β -Form. Während dieser Vorgänge wird die Gestalt der globulären Protein-Molekel bzw. der sie aufbauenden Schichten deformiert. Der Übergang von α - in β -Protein verursacht eine Verlängerung der Schicht. Die Aggregation der deformierten Protein-Schichten ist unregelmäßig oder teilweise geordnet möglich und wird als sekundäre Stufe der Denaturierung angesehen¹⁴⁹.

Zur Haftpunkttheorie¹⁴⁹) ist zu bemerken, daß man bisher keine direkten Beweise für das Vorliegen isolierter und gestreckter Ketten in der Zelle gefunden hat. Es ist wahrscheinlicher, daß die strukturierten Zellproteine aus

¹⁴⁸) H. Zahn, Vortrag Eiweißtagung Deidesheim, Sept. 1950.

¹⁴⁹) A. Frey-Wyssling, Proc. 6. Int. Bot. Kongr. Amsterdam 2, 294 [1935]; vgl. Protoplasma 25, 261 [1936].

feinsten Mikrofibrillen bestehen und daß die Haftung nicht zwischen einzelnen Peptidketten, sondern zwischen feinsten Mikrofibrillen oder etwa 20 Å breiten Spiralketten erfolgt.

Im Sinne der Fransenmizelltheorie hätte man elektronenmikroskopisch in den Faserproteinen unregelmäßig verteilte dichtere Stellen finden müssen. Tatsächlich sind aber die feinsten sichtbaren Einheiten bemerkenswert konstant in ihrer Breite und häufig quergestreift. Dies zeigt, daß die Peptidketten nicht auf dichtere und lockere Bereiche unregelmäßig verteilt sind und die kristallinen, dichten Bereiche (Mizellen) durchziehen oder in ihnen enden. Man nimmt heute eine regelmäßige Parallelage von Ketten oder Kettenresten an, wobei die Enden der Ketten in derselben Ebene liegen. Die Fransenmizelltheorie kann jedoch weiter angewendet werden, wenn man sich als Fransen an Stelle einzelner und gestreckter Ketten Mikrofibrillen oder stark gefaltete Ketten vorstellt. Viele elektronenmikroskopische Bilder zeigen das Ausfransen von Fibrillen in feinste Fäden, welche breiter als 10 Å und daher breiter als isolierte gestreckte Ketten sind. Auch zeigen diese „Fransen“, z. B. bei Kollagen, weiterhin die Querstreifung.

Der Referent dankt auch an dieser Stelle für die Überlassung von Sonderdrucken und Bildvorlagen.

Eintrag am 15. Januar 1952 [A 417]

Ultraschallbildwandlung mittels thermisch bewirkten Farbumschlags

Von Dr. HANS HEINRICH RUST, Hamburg

Aus dem Institut für Angewandte Physik der Universität Hamburg

Es wird für Ultraschall-Durchleuchtungszwecke (zerstörungsfreie Werkstoffprüfung) eine neue Methode der Ultraschall-Bildwandlung vorgeschlagen. Die Ultraschall-Absorptionswärme im Feldmedium wird zur Bildwandlung ausgenutzt, indem Faränderungen von Thermochromen hervorgerufen werden. Besonders geeignet ist Silbertetrajodomerkurat. Es wird zur Herstellung eines Bildwandlers in dünner Schicht auf Acetylcellulose-Folie gebracht, wodurch sich ein dem photographischen Film analoges Ultraschall-„Belichtungsmaterial“ hoher Empfindlichkeit ergibt.

Mit Hilfe eines von Rust, Haul und Studt¹⁾ angegebenen Verfahrens ist es möglich, auf Grund chemischer Wirkungen des Ultraschalls eine Bildwandlung herbeizuführen. Es werden hierbei Ultraschall-Intensitätsunterschiede dadurch in optische umgesetzt, daß Jod-Ausscheidung und Anlagerung des Jods an Stärkemolekülen die Blaufärbung einer Jodkaliumstärke-Lösung hervorrufen. Bei Beschallung flächer Jodkaliumstärke-Lösung enthaltender Behälter als Bildwandler tritt aber sehr bald durch Diffusion und durch Strömungseffekte eine Vermischung der mehr oder minder stark eingefärbten Substanz und damit eine Verwischung der Bildkonturen ein. Deshalb haben Rust, Haul und Studt kleine, nebeneinander angeordnete und voneinander unabhängige Flüssigkeitssäulen zu einem Bildpunkt raster zusammengestellt. Damit ist eine Vermischung unterschiedlich gefärbter Volumenelemente nur noch innerhalb einer Flüssigkeitssäule des Kammersystems möglich. Die unterschiedlichen Extinktionen der einzelnen Flüssigkeitssäulen ergeben, sowohl im auf-

fallenden wie im durchtretenden Licht, ein kontrastreiches Bild der Ultraschall-Intensitätsverteilung, die am Bildwandler herrscht.

An Stelle der chemischen Wirkung des Ultraschalls kann auch die thermische ausgenutzt werden, wenn man als Indikatoren für die Bildwandlung Stoffe verwendet, deren Farben Temperaturabhängigkeit zeigen. Derartige Substanzen sind seit langem bekannt²⁾ und werden Thermochrome oder Thermocoloré genannt. Es sind sowohl reversible wie auch irreversible Thermochrome gefunden worden; beide haben Vor- und Nachteile bei der Ultraschall-Bildwandlung. Die reversiblen sind mehrfach zu verwenden, ergeben jedoch nicht haltbare Bilder; die irreversiblen sind dagegen nur einmal zu benutzen, dafür aber längere Zeit haltbar. Für Zwecke der Bildwandlung können feste, pastenförmige oder flüssige (gelöste oder dispergierte) Thermochrome verwendet werden, letztere z. B. unter Benutzung des vorbeschriebenen Bildwandlers. Wie gezeigt wird, ist jedoch hierfür ein viel einfacherer Weg möglich.

¹⁾ Naturwiss. 36, 374 [1949]; diese Ztschr. 62, 186 [1950].

²⁾ E. Meusel, Ber. dtsch. chem. Ges. 3, 313 [1870].