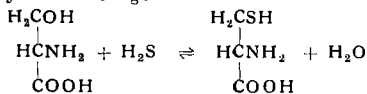


Biosynthese des Cysteins aus Serin und Schwefelwasserstoff

Von K. SCHLOSSMANN*) und Prof. Dr. F. LYNEN
Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere der Universität
München und Max-Planck-Institut für Zellchemie, München

Wir konnten in Hefezellen ein Enzym nachweisen, das L-Serin und H₂S zu Cystein vereinigt.



Aus Hefezellen, durch hochtouriges Schütteln mit Glasperlen zertrümmert, wird es extrahiert und durch drei Reinigungsschritte (Abtrennung von Begleitstoffen mit Protaminsulfat, Fraktionierung mit Ammonsulfat (0,4–0,65 Sättigung), Adsorption des aktiven Eiweißkörpers an Al(OH)₃-Gel) rund 50fach angereichert. Das Enzymprotein allein ist nahezu wirkungslos; erst mit katalytischen Mengen Pyridoxalphosphat¹⁾ wird Cystein gebildet. Die Reaktionsgleichung für die Cystein-Bildung stützt sich auf:

1.) Beim Inkubieren des gereinigten Enzyms mit Pyridoxalphosphat und überschüssigem H₂S entsteht unterhalb des Sättigungsbereichs die dem zugesetzten L-Serin stöchiometrisch entsprechende Menge Cystein. Bei Zugabe von DL-Serin beteiligt sich nur die L-Komponente am Umsatz.

2.) In Abwesenheit von H₂S läßt sich das zugesetzte Serin am Versuchsende quantitativ wiederfinden.

3.) Mit H₂³⁵S entsteht radioaktives Cystein. Dessen Oxydation mit Peramelsensäure führt zu radioaktiver Cysteinsäure, die papierchromatographisch und durch Hochspannungselektrophorese einwandfrei identifiziert wurde. Weitere Versuche werden zeigen, ob aus L-Serin, wie zu vermuten ist, nur L-Cystein entsteht.

Glykokoll und Alanin können am gereinigten Enzym Serin nicht ersetzen; auch mit Threonin wurde keine Sulfhydryl-Verbindung gebildet. Weder mit Thiosulfat noch mit Sulfat an Stelle des H₂S entsteht Cystein. Die Assimilation des anorganischen Schwefels erfolgt also erst auf der Stufe des H₂S.

Obwohl das neue Enzym, das, ohne einer späteren systematischen Nomenklatur vorzugreifen, als Serinsulfhydrase zu bezeichnen ist, bisher nur in Bäckerhefe nachgewiesen wurde, darf man vermuten, daß die Umsetzung von H₂S mit Serin auch bei anderen, zur Sulfat-Verwertung befähigten Mikroorganismen anzutreffen ist.

Der Mechanismus des Austauschs der β-Hydroxyl-Gruppe des Serins gegen die Sulfhydryl-Gruppe unter der katalytischen Wirkung von Pyridoxalphosphat fügt sich zwanglos den Anschauungen über die Pyridoxalkatalyse ein²⁾. Somit ist die Biosynthese des Cysteins den Biosynthesen des Tryptophans aus Serin und Indol oder des Cystathionins aus Serin und Homocystein an die Seite zu stellen.

K. Schloßmann dankt Prof. Brüggemann für die ihm gewährte wohlwollende Unterstützung. — Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, danken wir für die Gewährung von Beihilfen.

Eingegangen am 11. Februar 1957 [Z 438]

*) Dissert. Univers. München 1957.

¹⁾ Wir danken der Fa. Hoffmann-La Roche AG. für die Überlassung von Pyridoxalphosphat.

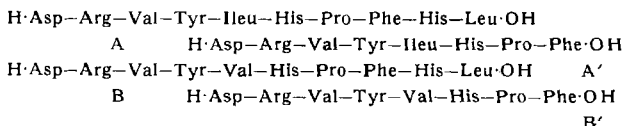
²⁾ D. E. Metzler, M. Ikawa u. E. E. Snell, J. Amer. chem. Soc. 76, 648 [1954].

Synthese von Hypertensin-II-peptiden

Von Dr. W. RITTEL, Dr. B. ISELIN, Dr. H. KAPPELER,
Dr. B. RINIKER und P.-D. Dr. R. SCHWYZER¹⁾

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft,
Pharmazeutische Abteilung, Basel

Aus Rinder- und Pferdeserum wurden drei Peptide mit Hypertensin-(Angiotonin-)wirkung an der Ratte isoliert²⁾. Zwei sind Dekapeptide und unterscheiden sich artspezifisch in Bezug auf die fünfte Aminosäure; wir möchten sie als Ileu⁵-hypertensin I³⁾ (Formel A, Pferd) und als Val⁵-hypertensin I (Formel B, Rind) bezeichnen. Das dritte, ein Oktapeptid (Ileu⁵-hypertensin II; A') wurde aus Pferdeserum isoliert und entsteht aus dem entspr. Dekapeptid A unter dem Einflusse des Hypertensin-Umwandlungsenzyms; es scheint der eigentliche gefäßverengernde Wirkstoff zu sein⁴⁾. Das entspr. Val⁵-hypertensin II (B'), welches beim Rinde der eigentliche Wirkstoff sein dürfte, ist bisher noch nicht isoliert worden.



Nachdem wir aktives Val⁵-hypertensin I hergestellt hatten⁵⁾, haben wir nun die Asp-β-amide der beiden Oktapeptide A' und B' synthetisiert. Beide besitzen in der Versuchsanordnung von Pearl⁶⁾ die zwei- bis vierfache Wirkung des Noradrenalins, was den besten durch Isolierung gewonnenen Präparaten entspricht⁷⁾.

Aus Derivaten der Dipeptide Val-Tyr, Val-His und Pro-Phe wurde das Hexapeptid-Derivat H-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OCH₃ aufgebaut, welches mit Cbo-Asparaginylnitro-arginin zu Cbo-Asp(NH₂)-Nitro-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OCH₃ kondensiert wurde (Fp 214–216 °C (Zers.); [α]_D²⁰ = –27 ± 4° in Dimethylformamid; G = 4,17 im System n-BuOH 0,1proz. Essigsäure 1:1; C₂₈H₄₇O₁₅N₁₅ (1224,37). Ber. C 56,90, H 6,34, N 17,16%; Gef. 56,59, 6,56 und 17,15%). Durch katalytische Hydrierung entstand das Trihydrochlorid des Oktapeptid-esters H-Asp(NH₂)-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OCH₃. Alkalische Verseifung ergab das freie Val⁵-hypertensin-II-Asp-β-amid, farbloses, papierchromatographisch einheitliches Pulver.

Cbo-Asp(NH₂)-Nitro-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OCH₃ (Fp 205 °C (Zers.), [α]_D²⁰ = –29 ± 4° in Dimethylformamid; G = 0,71 im System CH₃OH–H₂O–HCCl₃–CCl₄ 9:3:8:4; C₂₈H₄₇O₁₅N₁₅ (1238,40). Ber. O 19,38, (O)CH₃ 2,50%, Gef. 19,59 und 2,56%). Ileu⁵-hypertensin-II-Asp-β-amid wurde in gleicher Weise wie für die Val⁵-Verbindung beschrieben als farbloses, papierchromatographisch einheitliches Pulver erhalten.

Eingegangen am 14. Februar 1957 [Z 437]

¹⁾ Privatdozent an der Universität Zürich.

²⁾ D. F. Elliott u. W. S. Pearl, Nature [London] 177, 527 [1956]; L. T. Skeggs, K. E. Lentz, J. R. Kahn, N. P. Shumway u. K. R. Woods, J. exper. Med. 104, 193 [1956].

³⁾ Die römische Ziffer I kennzeichnet die Hypertensin-dekapeptide, II die Oktapeptide.

⁴⁾ L. T. Skeggs, J. R. Kahn u. N. P. Shumway, J. exper. Med. 103, 295 [1956].

⁵⁾ Chimia 10, 265 [1956].

⁶⁾ W. S. Pearl, Biochemic. J. 59, 300 [1955].

⁷⁾ Für die pharmakologische Testung danken wir Dr. Gross und Dr. Turrian von unserer biologischen Abteilung.

Versamlungsberichte

GDCh-Ortsverband Mainz-Wiesbaden

am 29. November 1956

G. SIEBERT, Mainz: Über Reinigung und Eigenschaften der TPN-gebundenen Isocitronensäure-Dehydrogenase.

Die ca. 80fache Reinigung der Triphosphopyridinnucleotid-Isocitronensäure-Dehydrogenase wird beschrieben; Ultrazentrifugierung ergibt einen Homogenitätsgrad von 95%, Elektrophoreseversuche sind wegen der Instabilität des Enzyms in verdünnten Salzlösungen schwer deutbar (Mol.-Gew. ca. 60000, Wechselzahl bei 25 °C mit Isocitrat = 4300). Die Reaktionen D-Isocitrat ⇌ α-Ketoglutarat + CO₂, Oxalsuccinat → α-Ketoglutarat + CO₂ und Oxalsuccinat → Isocitrat werden katalysiert. Die Reaktionen sind metallabhängig, indem Mn²⁺ stärker und in geringeren Konzentrationen als Mg²⁺ aktiviert. Die Empfindlichkeit des Enzyms und die Instabilität von Oxalsuccinat erschweren ein eingehendes Studium der beiden letztgenannten Reaktionen. — Der Quotient der Aktivitäten von Isocitronensäure-Dehydrogenase und Oxalbern-

steinsäure-Decarboxylase bleibt über alle Reinigungsschritte konstant. Beide Aktivitäten werden durch p-Chlor-quecksilber(II)-benzoat gehemmt (50% Aktivität bei 2·10⁻⁸ M, gleich Mol-Verhältnis von Protein:Inhibitor wie 1:10). Diese Befunde weisen ebenso wie Hemmversuche mit D-Isocitrat bei der Oxalsuccinat-Decarboxylierung und mit Oxalsuccinat bei der Isocitrat-Dehydrogenierung auf ein einziges Protein mit doppelter enzymatischer Aktivität und auf Identität der Bindungsstellen für die beiden Substrate hin. — Freies Oxalsuccinat ist während der Isocitratoxydation nicht abfangbar. Wenn die Reaktionen ¹⁴C-D-Isocitrat → α-Ketoglutarat + ¹⁴CO₂ und α-Ketoglutarat + ¹⁴CO₂ → ¹⁴C-Isocitrat in Gegenwart eines Oxalsuccinat-Pools ablaufen, findet sich keine Isotopenverdünnung zwischen Isocitrat und CO₂, jedoch nur eine ganz geringfügige Markierung des Oxalsuccinat-Pools. Freies Oxalsuccinat ist daher kein Zwischenprodukt der Reaktion. Die Diskussion berührt Fragen zweiköpfiger Enzyme und enzymgebundener Zwischenprodukte sowie das Ausmaß der Analogie [VB 872]