

Mikrowellenspektroskopie

Der Hauptvortrag von *E. B. Wilson, jr.*, (Cambridge, Mass., USA) behandelte im wesentlichen die Probleme, die bei mikrowellenspektroskopischen Untersuchungen auftreten, wenn man die Meßergebnisse in Bezug auf die Molekülstruktur auswerten will. Eingehend wurden die Faktoren besprochen, die – bedingt durch die stets vorhandene Nullpunktsschwingung – eine Unsicherheit in der Lokalisierung der Atome innerhalb eines Moleküls mit sich bringen. Die Genauigkeit, die zur Diskussion von Molekülstrukturen und Bindungseigenschaften als angemessen erscheint, wird mit etwa 0,01 Å angegeben, obwohl die Meßergebnisse wesentlich genauere Berechnungen, insbes. mit Hilfe der Substitutionsmethode von *Craitchman*, erlauben. Die Bedeutung und Grenzen, die die Methode der Ermittlung der sog. r_s -Struktur mit sich bringt, wurden eingehend diskutiert.

Der Einführungsvortrag von *W. Maier* (Freiburg/Br.) gab einen Überblick über die Ergebnisse der Mikrowellenspektroskopie in den letzten Jahren. Es wurden die apparativen und experimentellen Fortschritte geschildert. Die Verwendung des Backward-Wave-Oscillators (Carcinotrons) und die damit verbundenen Vorteile sowie die Probleme der Hohlraum-Spektrometer und der Maser-Spektrometer wurden diskutiert. Weiterhin wurde das Problem der gehinderten Rotation – bedingt durch Potentialschwellen – ausführlich dargestellt, sowohl von der experimentellen als auch von der theoretischen Seite her. Die Bedeutung der Behandlung der gehinderten inneren Rotationen für die Bestimmung von Molekülstrukturen wurde an Beispielen gezeigt.

M. Winnewisser, H. K. Bodenseh und W. Zeil, Karlsruhe, berichteten über mikrowellenspektroskopische Untersuchungen an Tertiärbutylacetylen, 1-Deutero-tertiärbutylacetylen, Tertiärbutylchlorid und Phenylacetylen²). Obwohl nur eine ungenügende Anzahl von Isotopensubstitutionen zur Verfügung stand, wurde versucht, eine wahrscheinliche Struktur anzugeben. Es zeigte sich, daß der C–C-Abstand neben der C≡C-Bindung etwas größer ist, als er für Methylacetylen und Acetonitril angegeben wird. Beim Phenylacetylen ist bemerkenswert, daß der Benzolring durch die Substitution der Acetylen-Gruppe offensichtlich nicht beeinflusst wird, d. h. seine geometrischen Dimensionen sind gleich denen des freien Benzols.

H. A. Dijkerman, Utrecht, berichtete über ein Stark-Hohlraum-spektrometer, das in der H₂O-M-Welle arbeitet. Dabei ist das

²) Vgl. *Angew. Chem.* 73, 171 [1961].

Stark-Feld senkrecht zum elektrischen Vektor des Mikrowellenfeldes. Dies bedeutet, daß Stark-Übergänge von $\Delta M = \pm 1$ möglich sind. Im Falle von Molekülen, die ein Atom mit einem Quadrupolmoment besitzen, treten Rotationsübergänge auf, welche nur eine Stark-Komponente besitzen, die nicht durch das Quadrupolmoment beeinflusst wird. Diese Komponente kann mit den üblichen Anordnungen nicht beobachtet werden. Die Apparatur erlaubt weiterhin eine absolute Bestimmung von Dipolmomenten ohne Vergleich mit dem Stark-Effekt von Molekülen, die ein bekanntes Dipolmoment besitzen. Es konnten die Dipolmomente von Methylchlorid und COS auf besser als $1/1000$ genau bestimmt werden. $\text{CH}_3^{35}\text{Cl}$: $\mu = 1,984$ D, $\text{CH}_3^{37}\text{Cl}$: $\mu = 1,892$ D, COS: $\mu = 0,7124$ D $\pm 0,0002$ D.

J. Sheridan und J. K. Tyler, Birmingham, berichteten über Messungen an linearen Molekülen, insbesondere am Fluoracetylen und Fluoracetylen. Neu vermessen wurden $^{35}\text{Cl}^{15}\text{N}$, $^{37}\text{Cl}^{17}\text{N}$, JC^{15}N , $^{35}\text{Cl}^{13}\text{CCH}$ und $^{35}\text{Cl}^{13}\text{CH}$. Für alle Halogenacetylene wird ein CN-Abstand von 1,159 Å gefunden. Der CF-Abstand im Fluoracetylen ist bemerkenswert kurz (1,279 Å). Jodacetylen ergab kein Mikrowellenspektrum; offensichtlich ist das Dipolmoment zu klein.

D. R. Lide und D. Christensen, Kopenhagen, untersuchten mit Hilfe der Mikrowellenspektroskopie die Strukturen des Vinylfluorids und Propylens. Bemerkenswert ist der F–C–H-Winkel im Vinylfluorid von 110° gegenüber einem F–C–C-Winkel von 120,8°. Beim Propylen ist der hohe Wert des C–C–C-Winkels von 124,3° auffällig.

J. Rastrup-Andersen, Kopenhagen, berichtete über die Totalaufklärung der Struktur des Thiophens mit Hilfe der Mikrowellenspektroskopie. Der Winkel am Schwefel beträgt 92°, der C=C-Abstand im Ring 1,370 Å, der C–C-Abstand 1,423 Å und der C–S-Abstand 1,714 Å.

A. Bauder, Zürich, berichtete über Messungen am Cyclobutanon. Die vier C-Atome und das Sauerstoff-Atom liegen in einer Ebene. Das Molekül besitzt die Symmetrie C_{2v} .

D. E. Mann und L. J. Nugent bearbeiteten die Mikrowellenspektren von Tertiärbutyleyanid und Tertiärbutylacetylen. Die Winkel am tert. C-Atom betragen etwa 111°, die C–C-Abstände neben der C≡C-Bindung wurden zu 1,473 Å bzw. 1,495 Å errechnet unter der Voraussetzung von C–C-Abständen, die denen des Isobutans entsprechen. [VB 503]

Desoxyribonucleinsäure

Tagung der Société de Chimie Physique in Col de Voza

26.–30. Juni 1961

Die Doppelstrangnatur der Desoxyribonucleinsäure (DNS), erstmalig postuliert von *Watson und Crick* (1953) ist durch viele Untersuchungen bestätigt worden. In dem langen steifen Molekül ist jeweils eine Adenin- bzw. Guaninbase des einen Strangs mit einer Thymin- bzw. Cytosinbase des anderen Strangs durch Wasserstoffbrücken gepaart. Röntgenuntersuchungen schließen andere Basenpaarungen in der DNS aus; außerdem gibt es keine Anhaltspunkte für eine komplexere Superstruktur, z. B. ein Vierstrang-DNS-Molekül (*Wilkins*, London). Auch die hochmolekulare Ribonucleinsäure (RNS) zeigt eine partielle Doppelstrang-Natur; die von *Doty* für die RNS (in Lösung) vorgeschlagene Struktur der Haarnadelförmigen Schleifen („loops“) erfährt dadurch eine Bestätigung. Die DNS aus Zellkernen und Bakterien (untersucht in Salzlösungen) läßt eine Zickzack-Struktur mit geradlinigen Segmenten und heterogen zusammengesetzten Knickpunkten erkennen, Molekulargewicht $6 \cdot 10^6$ bis $8 \cdot 10^6$ (*Sadron*, Strasbourg). Die DNS-Moleküle haben eine Hydrathülle, deren Stärke von ihrer Basenzusammensetzung abhängig ist (*V. Luzatti*, Strasbourg).

Wie groß ist ein DNS-Molekül? Aus dem Bakteriophagen T₂ kann man eine DNS mit einem Molekulargewicht von etwa $100 \cdot 10^6$ isolieren (Molekulargewichtsbestimmung durch Autoradiographie von ^{32}P -markierter DNS). Moleküle dieser Größe werden durch Scherkräfte, die bei den üblichen Isolierungsmethoden für DNS auftreten (z. B. beim Pipettieren, homogenisieren im Starmix) zerrissen. Berechnungen ergaben, daß ein hochmolekulares gestrecktes DNS-Molekül beim Durchfluß durch Kapillaren Scherkräften unterworfen ist, die groß genug sind, um kovalente Bindungen zu zerreißen. Das Molekül zerbricht dabei in der Mitte, wodurch sich die geringe Heterogenität in der Molekülgröße erklären läßt (*Levinthal*, Cambridge/USA).

Lassen sich die beiden Stränge eines DNS-Moleküls voneinander trennen und wie verhält es sich mit der biologischen Aktivität der

artig denaturierter DNS? Native DNS zeigt einen sogenannten Schmelzpunkt: Beim Erhitzen einer DNS-Lösung ändern sich bei einer bestimmten Temperatur viele physikalische Eigenschaften des DNS-Moleküls. Die Ursache dafür ist das Aufspulen des DNS-Doppelstranges. Parallel mit dieser Denaturierung werden biologisch aktive DNS-Moleküle (Transformationsfaktoren) inaktiviert. Die Renaturierung (Wiederzusammenfügen komplementärer Einzelstränge) ist durch sehr langsames Abkühlen einer hitzedenaturierten DNS-Lösung möglich. Gleichzeitig damit bildet sich die biologische Aktivität zum Teil zurück (*Marmur*, Waltham/USA). Mit der eleganten Methode der CsCl-Dichtegradienten-Zentrifugation (*Meselson, Vinograd, Stahl*, 1957) kann man ferner zeigen, daß eine Mischung von DNS-Molekülen aus genetisch verwandten Bakterienarten nach De- und Renaturierung sogenannte Hybride bilden kann, d. h. eine DNS-Doppelhelix enthält Einzelstränge von DNS-Molekülen verschiedener Spezies. DNS-Moleküle von genetisch nicht verwandten Stämmen bilden keine Hybride. Die Hybrid-Bildung biologisch nachzuweisen, gelingt, wenn man verschiedene DNS-Moleküle mit jeweils verschiedenen genetischen Markern dem Schmelzprozeß unterwirft; nach der Renaturierung findet man dann DNS-Moleküle, die zwei verschiedene Marker in sich vereinigen (*Herriot*, Baltimore/USA).

Grossman (Waltham/USA) berichtete über die antigene Wirkung von DNS. Nur denaturierte Phagen-DNS (diese enthält Glucose) zeigt eine starke antigene Wirkung, nicht die native. Aber auch denaturierte Desoxyribonucleinsäure aus anderen Quellen, die keinen Zucker enthalten, besitzen antigene Eigenschaften.

Die Wirkung der UV-Strahlung auf Nucleinsäuren ist eingehend untersucht worden (*Shugar*, Warschau; *Berends*, Delft/Niederlande); *Wacker*, Frankfurt). Nur die Pyrimidinbasen der Nucleinsäuren reagieren. Die Purine sind auf Grund geringerer Quantenausbeute wesentlich resistenter gegen UV-Bestrahlung. Zwei Reak-

tionstypen sind nachgewiesen worden: eine reversible Hydratisierung von Pyrimidinbasen und eine meistens irreversible Dimerisierung zweier Pyrimidine. Das Dimere des Thymins (2 Thyminbasen über einen Cyclobutanring verbunden) ist eingehend charakterisiert worden (*Berends*). Der Bakteriophage T_2 wird durch UV-Licht rascher inaktiviert als der Phage T_4 . Letzterer enthält ein Gen, welches die Bildung eines photoreaktivierenden Enzyms kontrolliert. Wird dieses Gen in den Phagen T_2 übertragen, so erhält der Phage die geringere UV-Empfindlichkeit des Phagen T_4 (*Harm, Köln*).

Ist die genetische Information in der Nucleotidsequenz der DNS „niedergeschrieben“, so ergibt sich die Frage, ob und wie diese Information zerstört oder geändert werden kann. Zerstörung ist möglich durch Einwirkung von Röntgenstrahlen (*Latarjet, Paris*), UV-Strahlung (*Litman, Denver/USA*), Bernsteinsäureperoxyd (*D. Luzzati, Strasbourg*). Durch Röntgenbestrahlung werden nur Pyrimidine peroxydiert, Bernsteinsäureperoxyd oxydiert alle DNS-Basen.

Veränderungen der Information (Mutationen), parallel einhergehend mit einer letalen Wirkung, werden ausgelöst durch die Einwirkung (in vitro) von salpetriger Säure, alkylierenden Agentien und Hydroxylamin auf Phagen und Transformationsfaktoren. Die Aminobasen in der DNS reagieren mit unterschiedlicher Geschwindigkeit mit salpetriger Säure (*Litman, Schuster, Tübingen*). Dadurch gelang beim Phagen T_2 der Nachweis, daß Guanin-Desaminierungen nur letal wirken, während die mutagene Wirkung auf Desaminierungen von Adenin und Cytosin zurückzuführen ist (*Vielmetter, Tübingen; Schuster*). Alkylierungen finden vorzugsweise am Guanin statt (*Lawley, Großbritannien*), Hydroxylamin spaltet Uracil und addiert sich an Cytosin; Thymin ist resistent (*Freese, Madison/USA; Vielmetter, Schuster*).

Änderungen in der genetischen Information der DNS sollten Veränderungen in der Struktur der Proteine zur Folge haben. Bei zwei Systemen lassen sich diese Zusammenhänge gut untersuchen: Erstens mit der alkalischen Phosphatase (Molekulargewicht ungefähr 70000) aus *E. coli*. Es gibt Mutanten von *E. coli*, welche die normale Menge des Phosphatase-Proteins bilden, aber mit geringerer Funktionstüchtigkeit. Andere Mutanten bilden eine geringere Menge Enzym oder gar kein Enzym (*Garen, Philadelphia/USA*). Zweitens mit dem Lysozym aus T-Phagen und Mutanten (*Streisinger, Cold Spring Harbor/USA*).

Welches sind die ersten Ereignisse, wenn ein Bakteriophage eine Bakterienzelle infiziert? Untersuchungen mit ^{32}P -markierter

Phagen-DNS haben gezeigt, daß wenige Minuten nach der Infektion eine Übertragung der DNS-„Information“ auf ein System erfolgen muß, das stabil ist gegen ^{32}P -Zerfälle. Die Natur dieses Systems ist noch unbekannt (*Stent, Berkeley/USA*). Eine neue Art von RNS („messenger-RNA“) wird gebildet, deren Basenzusammensetzung der der Phagen-DNS ähnlich ist; diese RNS assoziiert sich mit den schon vorhandenen Bakterienribosomen und hat eine rasche Umsatzrate (*Gros, Paris; Jacob, Paris*). Neue Enzyme (9 wurden bis heute identifiziert), die in der nicht infizierten Zelle nicht vorhanden sind, werden synthetisiert. Die Aktivität anderer Enzyme, die in nicht infizierten Zellen vorhanden sind, wird nach der Infektion stark erhöht. Dabei können Enzyme, deren Bildung die Phagen-DNS veranlaßt hat, die gleiche Funktion ausüben, wie Enzyme in nicht infizierten Zellen, sie können sich aber in anderen Eigenschaften (z. B. serologisch) unterscheiden (*Kornberg, Palo Alto; S. S. Cohen, Woodshole/USA*). Der Phage $\Phi\text{X } 174$ enthält eine Einstang-DNS. Kurz nach der Infektion wird diese DNS in eine „replicative form“ umgewandelt, die wahrscheinlich aus einem Doppelstrang-DNS-Molekül besteht. Diese hat auch infektiöse Eigenschaften (*Sinsheimer, Pasadena/USA*).

Die DNS-abhängige enzymatische in-vitro-Synthese von RNS aus den Nucleosid-triphosphaten, erstmalig von *Weiss* (Chicago, 1960) mit einem Enzym aus Rattenleberzellkernen nachgewiesen, ist inzwischen auch mit verschiedenen in-vitro-Systemen aus Mikroorganismen nachgewiesen worden. So isolierte *Hurwitz* (New York, vorgetragen von *Horecker, New York*) aus *E. coli*-Zellen eine Ribonucleotid-Polymerase, die DNS als „Starter“ benötigt. Die geeignetsten Starter sind denaturierte DNS-Moleküle oder die Einstang-DNS des Phagen $\Phi\text{X } 174$. Die neu synthetisierte RNS hat eine dem DNS-Starter analoge Basenzusammensetzung.

Ergebnisse mancher Untersuchungen deuten darauf hin, daß Chromosomen Ringstruktur haben können. Je nach dem Ort, an dem das Chromosom aufgebrochen wird, können daher miteinander verbundene Marker in den Reihenfolgen abc, bca oder cab auftreten (*Stahl, Eugene/USA*). Rekombinationsversuche mit λ -Phagen und Mutanten lassen den Schluß zu, daß Rekombinanten durch Auseinanderbrechen der Eltern-Chromosomen und anschließende Wiedervereinigung der Fragmente zu genetisch kompletten Chromosomen entstehen. Der Chromosomenbruch kann ohne vorherige Trennung der DNS-Doppelstränge eintreten. Auch muß sich die DNS nicht vermehren, um zu rekombinieren (*Meselson, Cambridge/USA; Weigle, Pasadena/USA; Stahl*). [VB 516]

Verein der Zellstoff- und Papier-Chemiker und -Ingenieure

27. bis 30. Juni 1961 in Baden-Baden

Aus den Vorträgen:

G. JAYME und P. KLEPPE, Darmstadt: *Neue Ergebnisse bei der Durchschnittspolymerisationsgrad-Bestimmung und der Ermittlung der Kettenlängenverteilung von Zellstoffen mittels alkalischer Eisen-Weinsäure-Natriumkomplexlösungen.*

Zu den neuen komplexen Lösungsmitteln für Cellulose gehören die Eisen-Weinsäure-Natrium-Komplexlösungen (I). Sie eignen sich besonders zur Bestimmung des Polymerisationsgrades von Cellulose, da diese in ihnen nur wenig abgebaut wird.

In drei I-Lösungen, die sich durch Zusammensetzung und Lösekraft unterscheiden, wurden Kunstseidenzellstoffe und ihre Fraktionen aufgelöst. Nach der Formel von *Schulz* und *Blaschke* ließ sich die bei verschiedenen Konzentrationen von Cellulose in I gemessene Viskosität zur Ausrechnung der Grenzviskositätszahl benutzen. Man erhielt — für jede der drei I-Lösungen — eine Kurve Grenzviskositätszahl in Abhängigkeit vom DP. Die DP-Werte wurden durch Diffusions- und Sedimentationsmessungen im Zuge einer früheren Arbeit von *Claesson, Bergmann* und *Jayme* bestimmt. Der Verlauf der Kurven ist im mittleren DP-Bereich durch die Beziehung $[\eta] = K \cdot DP + A$ gegeben. Im höheren DP-Bereich weicht die Kurve von der Form einer Geraden ab. Auflösungen von Cellulose in I ließen sich auch nach dem Molekulargewicht fraktionieren. Am günstigsten erwies es sich, die Cellulose zuerst vollständig in I zu lösen, mit starker Natronlauge auszufällen und dann durch Verdünnen mit Wasser fraktionierend aufzulösen.

G. JAYME und K. KRINGSTAD, Darmstadt: *Anwendung von Eisen-Weinsäure-Natriumkomplex-Lösungen bei der Fraktionierung von Hemicellulosen.*

Es ist bekannt, daß Hemicellulosen mit einigen Komplexen schwer lösliche Verbindungen eingehen. Modellversuche zeigten, daß auch Eisen-Weinsäure-Natriumkomplex-Lösungen (I) mit Hemicellulosen solche Verbindungen zu bilden und sie in dieser

Form aus alkalischen Lösungen auszufällen vermögen. Je nach der Art der Polysaccharide (Glukane, Mannane, Xylane) und ihrer Herkunft (Nadelholz, Laubholz, Stroh) war die ausfällende Wirkung des I verschieden stark. So war es möglich, die mit Hilfe von Alkali aus Fichtenholz-Holocellulose extrahierten Hemicellulosen in Fraktionen zu trennen. Die erste Fraktion erhielt man durch Zusatz von I, die zweite durch Zusatz von Essigsäure, die dritte fällte man mit Methylalkohol aus; jede Fraktion wurde auf die gleiche Weise nochmals in drei Unterfraktionen zerlegt. Dabei reicherten sich die Glukomannane in xylan-freien Einzelfraktionen und die Xylane in mannan-freien Einzelfraktionen an. Glucose und Mannose traten in einer fast reinen Glucomannan-Fraktion im Verhältnis 1:3 auf und waren in der Regel mit 5 % Galaktose vergesellschaftet, evtl. als Galakto-Glucomannan. Die gleiche Fraktionierung wurde auch an Pappelholocellulose ausgeführt, wobei es ebenfalls gelang, eine sehr bedeutende Xylan-Fraktion und eine kleinere Glucomannan-Fraktion (Glucose zu Mannose 2:3) zu erhalten. Die Uronsäuren wurden mengenmäßig nicht erfaßt.

N. E. VIRKOLA und A. A. ALM, Helsinki: *Zur Beeinflussung der Qualität der Papierzellstoffe.*

Fichtenholz wurde einmal mit Calciumbisulfit, zum anderen mit Natriumbisulfit aufgeschlossen, wobei durch Variation des Verhältnisses $\text{NaOH}:\text{SO}_2$ pH-Werte zwischen 1,5 (überschüssiges SO_2) und 6 ($\text{Na}_2\text{SO}_3 + \text{NaHSO}_3$) eingestellt wurden. Die mechanischen Eigenschaften solcher Natriumbisulfit-Papierzellstoffe waren bei pH 4 bis 5, — gemessen zu Beginn der Kochung, — besser als diejenigen üblicher Calciumbisulfitzellstoffe, bei pH 6 jedoch etwas schlechter. Es zeigte sich, daß im letztgenannten Falle sehr viel Glukomannan im Zellstoff erhalten blieb. Diese Erscheinung wurde in Parallele zu einem ähnlichen Festigkeitsverlust gesetzt, der dann auftritt, wenn man Zellstoff nach dem Sulfatverfahren unter Zusatz von Natriumborhydrid herstellt. Dann fand man nämlich ebenfalls erhöhten Glukomannan-Gehalt, aber reduzierte