

tion der Antikörper) vorhanden sein müssen. Die Antikörper-Produktion ist um so besser, je größer das Antigen ist. Sie steigt bei Verwendung vernetzter Polysaccharid-Antigene stark an.

Interessanterweise findet man in der Hämolymphe der Königskrabbe eine  $\gamma$ -Globulin-Komponente, die mit roten Blutkörperchen einen Niederschlag bildet. Das scheint auf ein primitives Antigen-Antikörper-System zu deuten. Antigen-Antikörper-Reaktionen waren bisher nur bei höheren Tieren bekannt.

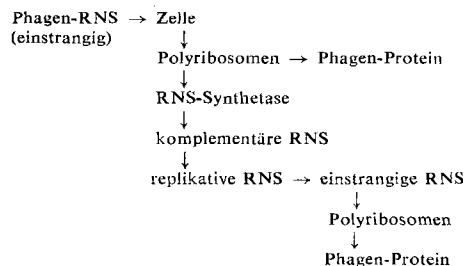
Über die Antikörperbildung bei Transplantationen berichtete *A. Rubin* (Brookline, Mass.). Gibt man nach einer Nierentransplantation dem Patienten am gleichen Tag oder am Tage danach 6-Mercaptopurin, so wird das überpflanzte Organ nicht wieder abgestoßen. 6-Mercaptopurin stört also die Bildung von Antikörpern gegen die körperfremde Niere, wahrscheinlich auf der Stufe der Makrophagen-RNS.

In noch nicht abgeschlossenen Versuchen soll geprüft werden, ob in den Antikörper synthetisierenden Organen eines immunisierten Tieres antikörper-spezifische RNS-Arten auftreten. Kaninchen wurden dazu mit Humanalbumin und -ferritin immunisiert. Bei maximaler Antikörperproduktion wurden die Tiere getötet und die Ribosomen ihrer Milz im Dichtegradienten zentrifugiert.

## Ribonucleinsäure-Reduplikation

Den einführenden Vortrag hielt *R. Smellie* (Glasgow). RNS-Polymerase synthetisiert Ribonucleinsäure aus den vier Ribonucleosid-triphosphaten in Gegenwart von DNS und  $Mn^{2+}$ . Native und einsträngige DNS (DNS vom Phagen  $\Phi$ X-174 oder durch Erhitzen denaturierte DNS-Präparate) können als Matrize dienen. Die Nucleotid-Sequenz der synthetisierten RNS ist komplementär zur Basen-Sequenz der DNS, was für eine komplementäre Basen-Paarung während der RNS-Synthese spricht. Die Komplementarität von Matrize und Produkt ergibt sich aus der Analyse unmittelbar benachbarter Basen (nearest-neighbor analysis), aus der Bildung von DNS/RNS-Hybriden und aus dem Basen-Verhältnis in Matrize und Produkt. Von nativer DNS dienen in vitro beide Stränge als Matrizen für die RNS-Bildung, denn mit einsträngiger  $\Phi$ X-174-DNS als Vorlage entsteht RNS mit einer komplementären Basen-Zusammensetzung, während doppelsträngige  $\Phi$ X-174-DNS ein Produkt mit identischer Basen-Zusammensetzung liefert. Dagegen wird in vivo offenbar nur einer der beiden Stränge nativer DNS kopiert. Dafür spricht folgendes Experiment: die beiden Stränge einer nativen Phagen-DNS ließen sich durch Zentrifugieren im Dichtegradienten trennen. Während in vitro jeder dieser Stränge RNS lieferte, war in Bakterien, die mit den Phagen infiziert worden waren, lediglich eine mRNS nachzuweisen, die mit nur einem der beiden DNS-Stränge ein Hybrid bildet.

Die Reduplikation von Viren-RNS war das Thema des Vortrags von *S. Ochoa* (New York). Wird *Escherichia coli* mit dem Phagen MS2 infiziert, der einsträngige RNS enthält, so bilden die Zellen eine RNS-Synthetase, die sich isolieren ließ. Das Enzym enthält Ribonucleinsäure in einer gegen RNase zum Teil beständigen Form. Offenbar handelt es sich um doppelsträngige RNS. Diese als replikative Form bezeichnete RNS bildet nach dem Vermischen mit anderen RNS-Arten beim Erhitzen und Wiederabkühlen nur mit MS2-RNS ein Hybrid. Man hat also anzunehmen, daß die mit dem MS2-Phagen infizierten Zellen zunächst einen komplementären RNS-Strang synthetisieren, der mit der ursprünglichen Phagen-RNS eine Doppelhelix bildet. Diese replikative Form dient dann als Matrize für die Synthese neuer Phagen-RNS. Die Zerstörung der an das Enzym gebundenen replikativen RNS führt zur irreversiblen Hemmung des Enzyms. Wahrscheinlich gilt für die Bildung neuer Phagen in infizierten Zellen folgendes Schema:



Dabei ist allerdings noch ungeklärt, ob die isolierte Synthetase die komplementäre RNS bildet oder ob dafür ein weiteres Enzym verantwortlich ist.

## Beziehungen zum psychischen Gedächtnis

*H. Hydén* (Göteborg) berichtete einleitend über Versuche mit Ratten, die eine neue Handlungsweise lernen mußten und deren Gehirn dann in den entsprechenden Abschnitten auf seinen RNS-Gehalt analysiert wurde (Analyse der Zellkerne einzelner Neuronen; Nachweisempfindlichkeit:  $\mu\mu\text{g}$ ). Rechtshändige Tiere lernten, ihre Nahrung mit der rechten Vorderpfote aus einer Röhre zu entnehmen. Danach wurde die Röhre so versetzt, daß die Nahrung nur mit der linken Vorderpfote zu erreichen war. Analysiert wurde dann derjenige Teil der somato-sensorischen Hirnrinde, der die Händigkeit des Tieres bestimmt. Man fand eine deutliche Zunahme des RNS-Gehaltes in den Zellschichten der rechten Hirnhälfte. Die entsprechenden Zellen der linken Hirnhälfte dienten als Kontrollen. Die aus den Zellen der rechten (lernenden) Hirnhälfte isolierte RNS zeigte zudem ein höheres Verhältnis von Purin- zu Pyrimidinbasen.

In einem zweiten Versuch mußten die Tiere einen dünnen, 1 m langen, um  $45^\circ$  gegen die Horizontale geneigten Stahl-draht hinaufkriechen, um ihre Nahrung zu erreichen. Bei einer täglichen Lernzeit von 45 min brauchten die Ratten vier bis fünf Tage, bis sie die neue Handlungsweise beherrschten. Analysiert wurden die großen Nervenzellen und die Glia des lateralen Vestibular-Kernes, wobei als Kontrollen Neuronen und Glia aus anderen Hirnteilen des gleichen Tieres sowie von anderen Tieren dienten. Man fand wiederum einen Anstieg im RNS-Gehalt der Nervenzellen sowie im Verhältnis Adenin:Uracil der nuclearen RNS der Nervenzellen und der Glia-RNS.

Möglicherweise sind diese Ergebnisse so zu interpretieren, daß beim Lernen reprimierte Abschnitte der chromosomalen DNS in den Hirnzellen aktiv werden und eine ihnen entsprechende RNS erzeugen, die wiederum zur Synthese spezifischer Proteine führt. Die Anwesenheit dieser Proteine oder die Geschwindigkeit ihrer Produktion könnte die Weiterleitung des nervlichen Reizes beeinflussen. Auch die Glia dürfte an diesem Vorgang beteiligt sein, etwa indem sie die Induktion der RNS-Synthese im Neuron reguliert.

Abschließend zeigte *F. O. Schmitt* (Cambridge, Mass.) einige Möglichkeiten der Informationsspeicherung im Zentralnervensystem auf. Man kann sich das System aus Neuronen, Nervenfasern und Synapsen im Gehirn als dreidimensionales Netz, ähnlich den Gleisen eines Rangierbahnhofs, denken. Das Schicksal eines Impulses hinge dann im wesentlichen davon ab, über welche Strecken des Netzes er weitergeleitet wird. Die Entscheidung darüber könnten die Neuronen haben. Sie üben diese Entscheidung möglicherweise aus, indem sie spezifische Proteine durch ihre Nervenfasern zur Synapse schicken, die dort nur die Weiterleitung bestimmter Impulse gestatten. Sicher ist, daß Protein in den Neuronen ständig synthetisiert wird und durch die Nervenfasern zur Synapse wandert. Aber bis heute ist nicht bekannt, ob dieses Protein nur dem Stoffwechsel der Nervenzellen oder als Baumaterial zur Herstellung spezifischer Verbindungswege oder gar als molekularer Informationsspeicher dient.

[VB 824]

Das diesjährige 15. Mosbacher Kolloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie (22. bis 25. April) war der Immunchemie gewidmet. *O. Westphal* (Freiburg), Leiter der Tagung, und *M. Heidelberger* (New Brunswick/USA) wiesen einleitend darauf hin, daß sich die Immunchemie nicht nur mit den chemischen und biochemischen Mechanismen der Immunitätsvorgänge befaßt. Die hohe Spezifität der Antikörper in Bezug auf das auslösende Antigen macht diese in vielen Fällen zu idealen und bislang unübertroffenen Reagentien auf komplexe Strukturen in Naturstoffen. Insofern ist die Immunchemie auch ein wichtiger Zweig der analytischen Naturstoffchemie. Von steigender Bedeutung, besonders zur Charakterisierung komplexer Proteinmischungen, sind die vielen Varianten der serologischen Präzipitation in Gelen, worüber *Ö. Ouchterlony* (Göteborg), *P. Grabar* (Paris) und *G. Schwick* (Marburg) berichteten.

*W. T. J. Morgan* (London) berichtete über die Struktur menschlicher Blutgruppensubstanzen des A-, B-, O(H)- und Le<sup>a</sup>-Systems. Die blutgruppenspezifischen Substanzen auf Erythrocytenoberflächen sind Glykolipide über deren chemische Struktur noch wenig bekannt ist. Sie kommen bei vielen Menschen auch in Sekreten und Körperflüssigkeiten vor. Es sind Mucopolysaccharide, die neben ca. 80 % Kohlenhydrat etwa 20 % Protein enthalten. Der Kohlenhydratanteil besteht aus L-Fucose, D-Galaktose, N-Acetyl-D-glucosamin und N-Acetyl-D-galaktosamin. Außerdem kommt in sehr unterschiedlicher Menge N-Acetylneuraminsäure vor. Die für die vier Spezifitäten (A-, B, O(H), Le<sup>a</sup>) verantwortlichen chemischen Strukturen wurden aufgeklärt 1. mit Hilfe immunchemischer Methoden, 2. durch schrittweisen enzymatischen Abbau und 3. aus der Struktur der Oligosaccharide, die bei der Hydrolyse mit Säure (Mineralsäure und Polystyrolsulfonsäure) und Basen (u. a. Triäthanolamin) entstehen. Die Ergebnisse führten zu folgendem Vorschlag für die Sequenz der jeweils ersten fünf Zuckerbausteine [1]:

A-Substanz

1.  $\alpha$ -GalNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)- $\beta$ -GNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)-GalNAc
2.  $\alpha$ -GalNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-4)- $\beta$ -GNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)-GalNAc

B-Substanz

1.  $\alpha$ -Gal-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)- $\beta$ -GNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)-GalNAc
2.  $\alpha$ -Gal-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-4)- $\beta$ -GNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)-GalNAc

O(H)- und Le<sup>a</sup>-Substanzen

1.  $\beta$ -Gal-(1-3)- $\beta$ -GNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)-GalNAc
2.  $\beta$ -Gal-(1-4)- $\beta$ -GNAc-(1-3)- $\beta$ -Gal-(1-3)-GalNAc

Jede Substanz enthält also mindestens zwei verschiedene serologisch aktive Kohlenhydratketten. Diese sind wahrscheinlich an einem gemeinsamen Peptidgerüst verankert, das serologisch selbst keine Rolle spielt. L-Fucose und Neuraminsäure sind vermutlich als säurelabile, nichtreduzierende Gruppen an die Zuckerkette gebunden.

Durch alkalische Hydrolyse der gruppenspezifischen Substanzen wurden einige fucose-haltige Oligosaccharide erhalten. In diesen ist Fucose 1-2-glykosidisch an Galaktose und auch (sehr wahrscheinlich) 1-4-glykosidisch an N-Acetylglucosamin gebunden. Diese Ergebnisse geben einen Hinweis auf die Bindungsstellen der Fucose in der Gesamtstruktur der spezifischen Mucopolysaccharide. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß relativ kleine Bereiche im Polysaccharidanteil der Mucopolysaccharide für die charakteristischen serologischen Eigenschaften der blutgruppenspezifischen Substanzen verantwortlich sind.

*G. F. Springer* (Evanston/USA) behandelte die „Beziehung blutgruppenaktiver Substanzen zu Bakterien, höheren Pflanzen und Viren“. Blutgruppenaktive Substanzen stellen ein in der Natur weitverbreitetes Strukturprinzip dar, das in Zellen der primitivsten wie höchsten Lebensformen angetroffen wird.

[1] Gal = Galaktose, GalN = Galaktosamin, G = Glucose, GN = Glucosamin, Ac = Acetyl.

Zahlreiche Bakterien (z. B. *E. coli* O 86) haben hohe Blutgruppen-B-Aktivität. Aus dem serologisch aktiven Polysaccharid von *E. coli* O 86 wurden Oligosaccharide hoher B-Spezifität isoliert. Eines davon ist ein Heptasaccharid bestehend aus 4 Galaktose-Molekülen, 1 Fucose-, 1 Glucose und 1 Hexosamin-Molekül. Am reduzierenden Ende steht Galaktose. B-spezifische Haptene aus *E. coli* O 86 sind den menschlichen glucose-freien Blutgruppensubstanzen sehr ähnlich.

In zwei höheren Pflanzen (*Taxus* und *Sassafras*) wurden Polysaccharide mit hoher Blutgruppen-O(H)-Aktivität gefunden. Beide enthalten keine Fucose, während L-Fucose ( $\alpha$ -gebunden) in der menschlichen O(H)-Substanz vorhanden und serologisch wesentlich ist. Hingegen enthält das *Taxus*-Polysaccharid 2-O-Methylfucose und das *Sassafras*-polysaccharid 3-O-Methylfucose. Auf Grund immunchemischer Untersuchungen an synthetischen Fucoseäther-methylglykosiden wird geschlossen, daß die O(H)-komplementäre Struktur des Antikörpers (Aalserum) kleiner als ein Monosaccharid ist, das eine C- oder O-Methylgruppe in äquatorialer Stellung und in Nachbarstellung einen Äthersauerstoff erfordert. Enantiomorphe Isomere können quantitativ völlig gleiche Aktivitäten besitzen.

Einige Viren (z. B. Influenzavirus oder Virus der Hühnerpest) haben hohe Blutgruppen-A-Spezifität. Diese läßt sich nicht vom Virus trennen und nimmt mit dessen Reinigung zu.

Über die somatischen Antigene von *Salmonella* S- und R-Formen sprach *O. Lüderitz* (Freiburg). *Salmonella*-O-Antigene werden mit Hilfe des Phenol-Wasser-Verfahrens als hochmolekulare, verzweigte Lipopolysaccharide erhalten, an deren Aufbau verschiedene Monosaccharide in wechselnder Zahl und Bindung beteiligt sind. Einige O-Antigene enthalten bis zu 8 verschiedene Zuckerbausteine, und alle bislang untersuchten *Salmonella* O-Antigene enthalten mindestens folgende 5 Monosaccharide (basale Zucker): Heptose, Galaktose, Glucose, 2-Keto-3-desoxyoctonsäure (KDO) und Glucosamin. Aus Strukturanalysen ergab sich, daß den Spezifitäten der O-Faktoren eines O-Antigens oligosaccharidische Strukturen entsprechen. *Salmonella*-Keime verlieren beim Übergang von der morphologisch glatten (smooth) S-Form in die morphologisch rauhe (rough) R-Form die O-Spezifität. Die R-Mutante synthetisiert nur noch ein relativ unspezifisches R-Antigen, das ebenfalls ein Lipopolysaccharid ist. R-Antigene enthalten nur die basalen Zucker; sie sind Verlustmutanten der Wildform. In einigen Fällen konnten bei schonendem chemischen Abbau von O-Antigenen Strukturen mit R-Spezifität freigelegt werden. Daraus wird geschlossen, daß R-Antigene die Basalstruktur der O-Antigene sind. R-Antigene sind demnach als Zwischenstufen der O-Antigensynthese aufzufassen, die in der R-Zelle akkumulieren, weil eines (oder mehrere) der zur Synthese der kompletten S-Form nötigen Enzyme ausgefallen ist. Mit serologischen Methoden wurden R-Antigene in zwei R-Serogruppen (RI und RII) unterschieden. RI-Mutanten enthalten im Gegensatz zu RII-Mutanten neben dem typischen R-Lipopolysaccharid eine polysaccharidische Fraktion, welche die spezifischen Zucker der S-Form enthält. In RI-Mutanten werden also die S-spezifischen Zucker synthetisiert aber nicht in das Lipopolysaccharid eingebaut. Demgegenüber ergab die Analyse von Vertretern des Serotyps RII, daß hier die Synthese eines der S-spezifischen Zucker blockiert ist. Zwei weitere R-Mutanten bei *Salmonellen* sind die M-Mutante und die RR-Mutante. Erstere kann keine Galaktose synthetisieren; ihr Lipopolysaccharid besteht aus Glucosamin, KDO, Heptose und Glucose. Letztere vermag, auf Fructose gezüchtet, keine Glucose zu bilden; ihr RR-Antigen besteht im wesentlichen aus Polyheptosephosphat.

Es wurde folgender Weg für die Biosynthese der O-Antigene vorgeschlagen:

