

Makromolekulares Kolloquium der Universität Freiburg i. Br.

Das Makromolekulare Kolloquium fand vom 11. bis 13. März 1965 in Freiburg/Brsg. statt und wurde vom Institut für Makromolekulare Chemie der Universität Freiburg/Brsg. veranstaltet.

Chemische Synthese und Biosynthese von codierenden Nucleinsäuren

F. Cramer, Göttingen

Durch Kondensation von Thymidyl- und Adenylsäure mit Pikrylchlorid, N,N-Dimethylformamid-dichlorid, $(\text{CH}_3)_2\text{NCHCl}_2$, oder Dicyclohexyl-carbodiimid lassen sich Oligothymidylsäuren und Oligoadenylsäuren darstellen, die bis zu 20 Kettenglieder enthalten. Dinucleotide und Trinucleotide der Desoxyreihe können zu Oligo-Doublets bzw. Oligo-Triplets kondensiert werden. Auf diesem Wege wurden erhalten: $(\text{pCpT})_n$ und $(\text{pGpApT})_n$. Ein Teil der dargestellten Oligonucleotide kann codierend wirken, d. h. im enzymatischen Test als Matrize für die Synthese von kopierter Desoxyribonucleinsäure oder von messenger-Ribonucleinsäure dienen.

Bei Verwendung von Schutzgruppen kann man Ribooligonucleotide synthetisieren; das längste bisher dargestellte ist ein Trinucleosid-diphosphat, UpUpC. Mit Hilfe des Enzyms Polynucleotid-Phosphorylase wurden gemischte Polynucleotide hergestellt, z. B. -(U)₈₀-G-(U)₈₀-G-(U)₈₀-G. Durch T₁-Ribonuclease wird diese Ribonucleinsäure ausschließlich neben der Guanylsäure gespalten. Dabei entsteht (U)₈₀-G, d. h. ein Polynucleotid mit dem terminalen Triplet UUG. Wenn dieses als Messenger für die Proteinsynthese verwendet wird, codiert es die Aminosäure Leucin. Damit ist bewiesen, daß UUG das Code-Wort für Leucin ist. Zudem ließ sich so erstmalig zeigen, daß der Messenger vom 3'-Ende her abgelesen wird.

Zur Chemie der Rekombination von Insulinketten zu biologisch aktivem Insulin

H. Zahn, B. Gutte [*] und O. Brinkhoff, Aachen

Kristallisiertes Rinderinsulin wurde in Harnstofflösung mit Mercaptoäthanol bei pH=5 reduziert. Das Gemisch der SH-Ketten wurde bei pH=9 und 4–8 °C mit Luft oxydiert und dialysiert. Gelfiltration an Bio-Gel P 150 in Ammoniumhydrogencarbonat-Puffer vom pH=8,15 lieferte in 50-proz. Ausbeute eine Fraktion mit einem Molgewicht von ca. 140000. In dieser Fraktion beträgt der Anteil an B-Ketten 70% (Aminosäureanalyse, amperometrische Disulfidanalyse und Lysinanalyse mit der FDNB-Methode [1]). An der Stelle des nativen Insulins befinden sich nur 5% des Rekombinationsproduktes. In der letzten Fraktion ist der Gehalt an A-Ketten erhöht. Der Hauptgrund für die niedrigen Ausbeuten bei der Rekombination von reduzierter A- und B-Kette scheint die Bildung von Polydisulfiden aus B- und A-Ketten zu sein.

Du, Jiang und Tsou [2] erhielten bei der Resynthese Ausbeuten von 50% Insulin. Vermutlich verhindert der hohe pH-Wert 10,6 die Bildung der Polymeren, da nach Fredericq [3] Insulin bei pH=10,6 nicht mehr aggregiert.

[*] B. Gutte, Diplomarbeit, Technische Hochschule Aachen, 1964.
[1] FDNB = Fluordinitrobenzol.

[2] Y.-C. Du, R.-Q. Jiang u. C.-L. Tsou, Scientia Sinica (Peking) 14, 229 (1965).

[3] E. Fredericq, Nature (London) 171, 570 (1953).

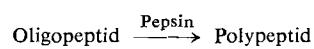
Auf einem anderen Wege wurden ebenfalls Insulinausbeuten bis zu 44 ± 14% erzielt (bestimmt anhand der Glucoseoxydation im Rattenfettgewebe). Hierzu wurde reduzierte A-Kette allein bei pH=8,8 mit Luft so lange oxydiert, bis die nachträgliche Vereinigung mit der reduzierten B-Kette eine optimale Ausbeute an biologisch aktivem Insulin ergab. In einem Versuch wurde das Optimum der regenerierten Aktivität nach einer Voroxydationszeit der A-Kette von 60 Minuten erreicht, bei einem anderen Versuch nach 100 Minuten.

Diese Resyntheseprodukte liefern bei der Gel-Filtration an Sephadex-G-75 an der Stelle des nativen Insulins eine deutliche Fraktion. Auch läßt sich das Insulin nach der Methode von Du et al. [4] mit saurem sek. Butanol extrahieren. Die Ausbeute an Insulinkristallen betrug etwa 20 bis 25% der gesamten Aktivität.

Oligomerisierung von Peptiden unter enzymatischer Katalyse

H. Determann, Frankfurt/Main

Bei der Rückreaktion der peptischen Proteolyse entstehen nur relativ niedermolekulare Kondensationsprodukte, wenn definierte Oligopeptide zur „Plastein-Reaktion“



eingesetzt werden. Dreißig solche Monomere – meist Pentapeptide – mit saurem, basischem oder neutralem Charakter, mit sehr guter und weniger guter Löslichkeit sowie mit verschiedenen Aminosäuren in der Kette und an den Enden lieferten – wenn sie sich überhaupt kondensieren ließen – ein Gemisch der homologen Oligomeren. Früher jedoch war die Bildung von proteinähnlichen Makromolekülen aus komplex zusammengesetzten Proteinhydrolysaten beschrieben worden. Wir haben jetzt solche Hydrolysate an Sephadex G-25 nach dem Molekulargewicht getrennt und erhielten aus den niedermolekularen Fraktionen durch Pepsineinwirkung ebenfalls nur niedermolekulare Plasteine. Wahrscheinlich sind die in der älteren Literatur angegebenen – und auch dort umstrittenen – hohen Molekulargewichte durch große Bruchstücke im eingesetzten Peptidgemisch oder auch durch Assoziationen zu erklären. – Die Spezifität des Pepsins für Hydrolyse und Kondensation ist bezüglich der beteiligten Carboxylgruppe identisch. Aufgrund von thermodynamischen Überlegungen und anhand einer Annahme über den Mechanismus der Pepsinkatalyse wird versucht, den frühzeitigen Stillstand der Kondensationsreaktion zu erklären.

Stand der Erforschung der spezifischen Polysaccharide von Enterobacteriaceen

O. Westphal, O. Lüderitz, Barbara Jann und K. Jann, Freiburg/Brsg.

Vergleichende Analysen der Zellwand-Lipopolysaccharide der S-Formen von mehr als hundert *Salmonella*- und ebenso vielen *E. coli*-Stämmen ergaben, daß diese Bakterien eine große Zahl von Zuckerbausteinen – darunter bislang unbekannte Desoxy- und Aminohexosen – synthetisieren und in ihre hochverzweigten Polysaccharide einbauen können. Alle diese Polysaccharide sind nach dem gleichen Prinzip aufgebaut: an eine Grundkette von Polyheptosephosphat sind lange Seitenketten gebunden, die ihrerseits weiterhin verzweigt sein können. Sie

[4] Y.-C. Du, Y.-S. Zhang, Z.-X. Lu u. C.-L. Tsou, Scientia Sinica (Peking) 10, 84 (1961).