

sind Träger der immunologischen Species-Spezifität (Serotypen). Die Struktur der Seitenketten wurde mit chemischen, immunochemischen und biochemischen Verfahren aufgeklärt, wobei Untersuchungen an Verlustmutanten (R-Formen) mit Enzymblocks (von Synthetasen oder Transferasen) in der Polysaccharid-Biosynthese sehr aufschlußreich waren. Die serologische und chemische Analyse von R-Formen ergab, daß alle Polysaccharide von *Salmonella*-S-Formen (Wildformen) ein gemeinsames Grundgerüst haben (basales Polysaccharid), in welchem kurze oligosaccharidische Ketten aus Glucose, Galaktose und Glucosamin an Polyheptosephosphat gebunden sind. An die terminale Glucosamin-Einheit (typisch für R_{II}-Mutanten) sind in S-Formen die sich wiederholenden Einheiten der langen O-spezifischen Seitenketten ancondensiert.

Eine chemische und genetische Klassifizierung der *Salmonellen* und anderer enterobakterieller Genera wird in Zukunft aufgrund der Struktur der sich wiederholenden Oligosaccharid-Einheiten und ihrer strukturellen Variation möglich sein. Bei der Einwirkung von Phagen können verschiedene Strukturen in andere übergehen (lysogene Konversionen). Auf diese Weise wird die serologische Klassifizierung (Kauffmann-White-Schema) durch eine biochemisch-genetische Klassifizierung ergänzt.

Viele *E. coli*-Keime bilden außer dem Zellwand-(Lipo)polysaccharid (O-Antigen) noch ein Kapsel-Antigen (K-Antigen), welches an der Zellwand dem O-Antigen aufgelagert ist. Viele, aber nicht alle K-Antigene erwiesen sich als uronsäure-haltige, sehr langkettige Polysaccharide. Das Bauprinzip einiger K-Antigene und die Struktur der determinanten Gruppe(n) wurden ermittelt. — Außer O- und K-Antigenen bilden mucocid *Coli*-Stämme noch eine Schleimsubstanz (M-Antigen; Colanic Acid von *W. F. Goebel*), welche ebenfalls ein saures Polysaccharid darstellt. Mit Hilfe des Phenol/Wasser-Verfahrens kann man aus den Bakterien alle Polysaccharide extrahieren und anschließend mit ¹⁴Cetavlon [5] in die gereinigten K- und M- (saure Polysaccharide) sowie O-Antigene (Lipopolysaccharide) trennen. Am Aufbau des K-, M- und O-spezifischen Polysaccharids des gleichen Keims können sehr verschiedene Zuckerbausteine beteiligt sein.

Eine enzymatische Methode zur kinetischen Untersuchung von Endohydrolasen : Aktivitätsbestimmung von α -Amylase

R. Werner und G. Keilich, Freiburg/Brsg.

Die Kinetik des Abbaus von Polysacchariden durch Endohydrolasen, die das Makromolekül innerhalb der Kette spalten, läßt sich nur dann exakt untersuchen, wenn man die Änderung des Molekulargewichts verfolgt. Die Bestimmung des Molekulargewichts (Zahlenmittel) ist mit Hilfe einer Exohydrolase, die monomere Kettenglieder von einem Ende des Polymeren her abspaltet, möglich, da ihre Reaktionsgeschwindigkeit von der Zahl der Endgruppen abhängt. Da durch die Endohydrolase neue Endgruppen gebildet werden, nimmt die Geschwindigkeit der Exohydrolase-Reaktion zu; ihre Änderung ist also ein quantitatives Maß für die Aktivität der Endohydrolase.

Diese neue Methode zur Aktivitätsbestimmung von Endohydrolasen wird am Beispiel der α -Amylase erläutert. Als Exohydrolase wird eine Polysaccharid-phosphorylase verwendet, deren Reaktionsgeschwindigkeit sich durch Bestimmung des gebildeten Glucose-1-phosphats mit Hilfe von Phosphoglucomutase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase im optisch-enzymatischen Test leicht messen läßt. Die Aktivität der α -Amylase wird dabei direkt in international definierten Einheiten — μ Mol gesplattene glucosidische Bindungen pro Minute — angegeben. Die Methode läßt sich grundsätzlich bei allen Endohydrolasen anwenden, für deren Substrat spezifische Exohydrolasen bekannt sind.

[5] Cetyl-trimethylammoniumbromid.

Für die Molekulargewichte nativer Dextrane hatte man, gestützt auf Untersuchungen mit der Ultrazentrifuge und mit der Lichtstreuung, außerordentlich hohe Werte von etwa 5×10^8 angenommen. Nach molekularkinetischen Abschätzungen aufgrund der molekularen Wirksamkeit des Enzyms hätten sich so große Moleküle erst nach längeren Reaktionszeiten bilden dürfen.

Es wurde eine Methode entwickelt, die es gestattet, das Zahlenmittel der Molekulargewichte (M_n) von nativen Dextranen zu bestimmen: die endständige Saccharosegruppe wird enzymatisch abgespalten und die resultierende aldehydische Endgruppe wird mit tritiumhaltigem Lithiumborhydrid reduziert; die spezifische Radioaktivität kann dann mit M_n in Beziehung gesetzt werden. Dabei ergeben sich M_n -Werte um 2×10^5 für Dextrane, die bei niedrigen Substratkonzentrationen erhalten wurden. Diese Werte stimmen mit den Ergebnissen der Fraktionierung an einer Baker-Williams-Kolonne überein. Die eingangs erwähnten hohen Werte werden Assoziaten zugeschrieben.

Kinetische Untersuchungen zur Biosynthese der Cellulose

M. Marx-Figini, Mainz

An den Samenhaaren verschieden lang gereifter Baumwollkapseln wurden die Menge synthetisierter Cellulose und deren Polymerisationsgrad in Abhängigkeit von der Reifezeit ermittelt und miteinander in Beziehung gesetzt.

Die Messungen zeigten, daß die Biosynthese der Cellulose deutlich zwei aufeinanderfolgende Phasen aufweist. In der ersten Phase verläuft die Synthese langsam und liefert nur wenig Cellulose. Die Hauptmenge der Cellulose entsteht während der zweiten Phase, die spontan einsetzt und in der die Synthese erheblich schneller verläuft. Die Zuordnung der zwei Reaktionsphasen zur Bildung der als Primär- und Sekundärwand bezeichneten Zellwandschichten wird durch die ermittelten Polymerisationsgrade sowie durch das Quellungsverhalten der Samenhaare, das Längenwachstum und die Menge gebildeter Nichtcelluloseanteile in den verschiedenen Reifestadien gesichert.

Der Polymerisationsgrad nimmt beim Übergang von der ersten zur zweiten Reaktionsphase sprunghaft um nahezu eine Größenordnung zu und bleibt dann während der gesamten Sekundärwandsynthese konstant. Er ist unabhängig von Umsatz und Reaktionsgeschwindigkeit und so gut wie völlig einheitlich. Es muß daher der Schluß gezogen werden, daß bei der Biosynthese der Cellulose in höheren Pflanzen die Herstellung eines konstanten Polymerisationsgrades durch Matrizen gesteuert wird.

Modellvorstellungen zur Cellulosesynthese und zum Aufbau der pflanzlichen Zellwand

G. V. Schulz, Mainz

Durch die von M. Marx-Figini mitgeteilten Untersuchungen (siehe vorangehendes Referat) wurde wahrscheinlich gemacht, daß die Biosynthese der Cellulose durch Matrizen gesteuert wird. Wir haben versucht, aufgrund der Eigenschaften der Cellulose und morphologischer Beobachtungen Vorstellungen über die Struktur des synthetisierenden Systems zu entwickeln. Zunächst ergibt sich aus dem Molekulargewicht, daß die Matrize etwa $5 \times 14000 \text{ \AA} = 7 \mu$ lang sein muß.

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Zellwänden (Frey-Wyssling, Mühlethaler, Preston) zeigen, daß die Sekundärwand aus Fibrillen unbestimmter Länge mit Durchmessern von 50 bis 150 \AA besteht. Diese sind parallel in Lagen angeordnet, die sich unter bestimmten Winkeln kreuzen. Diese Struktur schließt aus, daß das an der Matrize synthetisierte