

EXPERIMENTELLE BINDUNG VON EIWEISSKÖRPERN AN
ZELLKERNE UND NUKLEINSÄUREN
(KURZE MITTEILUNG)

von

PAUL OHLMEYER

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Tübingen (Deutschland)

I

Zu einem Reaktionsansatz der Prostataphosphatase mit Glycerinphosphat bei $p_H = 3.7$ haben wir isolierte Zellkerne der Thymusdrüse zugesetzt und eine Hemmung des Ferments auf etwa die halbe Wirkung beobachtet. Bei $p_H = 5$ und ebenso in Gegenwart gewisser (verdrängender) Eiweisskörper bleibt die Hemmung aus (Tab. I).

TABELLE I
ZELLKERNE HEMMEN DAS FERMENT
(PROTEIN E IST EINE FRAKTION AUS MUSKULATUR)

| Kerne (γ) | pH = 3.7 | | | | | pH = 5.0 | |
|---------------------------------|----------|----|-----|-----|---------------------------|----------|------|
| | — | 35 | 140 | 280 | (+ 15 γ Protein E) | — | 3500 |
| Kerne (γ) | — | 35 | 140 | 280 | (+ 15 γ Protein E) | — | 3500 |
| Fermentwirkung (rel. Zahlen) | 100 | 85 | 61 | 49 | 102 | 130 | 135 |

Die Hemmung beruht auf einer Bindung des Ferments an den Zellkern; die schützende Wirkung des Proteins auf einer Verdrängung. Die Verbindung lässt sich durch Zentrifugieren abtrennen; unter passenden Bedingungen wird dabei ein fermentfreier Überstand erhalten. Der Niederschlag hat dann eine der Hemmung entsprechende Fermentwirkung, die durch Zugabe von Eiweiss auf etwa die ursprüngliche Höhe gebracht werden kann.

II

Die Wirkung der Zellkerne beruht auf ihrem Gehalt an Nukleinsäure. Auch Thymonukleinsäure bildet eine Verbindung mit dem Ferment, die p_H -abhängig ist und durch andere Eiweisskörper gelöst werden kann. In dieser Bindung hat das Ferment, unter der (nicht völlig exakten) Annahme einer linearen Zeitfunktion, eine minimale Restwirkung von 13%.

Ein ähnlicher Rest wurde bei α -Glycerinphosphat, bei β -Glycerinphosphat und bei

Adenylsäure als Substrat gefunden. Er zeigt sich ebenfalls bei den Phosphatasen aus Muskel und aus weiblichem Harn. Er bleibt ferner erhalten, wenn das Prostataferment durch grössere Mengen Hefenukleinsäure oder durch Tannin gehemmt wird. Pikrinsäure und Nikotin haben unter analogen Bedingungen keine Wirkung. Der Rest ist unabhängig von der Substratkonzentration und vom p_H in den Grenzen 2.5 und 4.0.

Werden 3.7 γ Ferment bei $p_H = 3.7$ ohne Zusatz und mit 2 γ Nukleinsäure 20 min auf der Ultrazentrifuge bei 115000 g zentrifugiert, so bleibt ein geringer Anteil des Ferments in Lösung, der hemmbar ist wie das gesamte Ferment (Tab. II). Hieraus und aus der Restwirkung der Verbindung des Ferments mit Zellkernen geht hervor, dass nicht 13% des Ferments ungebunden bleiben, sondern dass das gebundene Ferment einen Wirkungsrest von 13% behält.

TABELLE II
DIE VERBINDUNG FERMENT-NUKLEINSÄURE IN DER ULTRAZENTRIFUGE

| | | Überstand | | | |
|-----------------------------|-----|---------------------------|-----|-----|-----|
| | | Nukleinsäure (γ) | | | |
| Nicht zentri- fugiert | — | 2 | 2 | 60 | |
| | | p_H im Ansatz | | | |
| | | 4.8 | 4.8 | 3.7 | 4.8 |
| 100 | 102 | 11 | 2 | 0 | |

Zu Ansätzen von 8 γ Ferment mit der maximal hemmenden Nukleinsäuremenge (0.8 γ) wurde eine Anzahl von Eiweißstoffen in Verdünnungsreihen zugegeben und so die Menge ermittelt, welche die Hemmung auf das halbe Maximum erniedrigt. In Tab. III ist diese Menge in Mikrogramm angegeben.

TABELLE III
ENTHEMMUNG DURCH EIWEISSKÖRPER

| Substanz | γ | Substanz | γ |
|-----------------------|-----------|----------------------------|----------|
| Gliadin | 700 | Serumglobulin | 5 |
| Pepsin | ? (> 400) | Hämoglobin | 2.8 |
| Tabakmosaikvirus | 36 | Salmin | 2.4 |
| Eieralbumin | 25 | Protamin aus Heringssperma | 0.7 |
| Inaktiviertes Ferment | 24 | Protein E | 0.3 |

Das Tabakmosaikvirus wurde geprüft, weil die Frage war, ob sein Nukleotidanteil hemmen oder sein Proteinanteil enthemmen würde. Dass (sauer) inaktiviertes Ferment enthemmen würde, war zu postulieren; seine Wirkung wird durch Pepsinverdauung zerstört. Die Verbindung Nukleinsäure-Serumglobulin wurde in grösseren Ansätzen gravimetrisch bestimmt und zeigte das konstante Gewichtsverhältnis 1:3.

ZUSAMMENFASSUNG

Phosphatase wird durch Bindung an Zellkerne oder an Nukleinsäure stark gehemmt. Die Verbindung ist nur bei $pH < 5$ beständig. Durch Eiweisstoffe kann das Ferment verdrängt und wieder mit der ursprünglichen Aktivität erhalten werden.

SUMMARY

Phosphatase is strongly inhibited by combination with cell nuclei or with nucleic acids. The compound is only stable at pH-values less than 5. The enzyme can be displaced by proteins and recovered with the original activity.

RÉSUMÉ

La phosphatase est fortement inhibée par combinaison avec les noyaux cellulaires ou avec les acides nucléiques. Cette combinaison n'est stable qu'à un pH inférieur à 5. Au moyen de protéines le ferment peut être déplacé de cette combinaison et régénéré avec son activité primitive.

Eingegangen den 4. April 1949