

Summary

The biogenesis of the carotenoids in *Phycomyces* is studied as function of the medium. The β -carotene being the essential carotenoid of this fungi. A medium is prepared in which glucose and asparagine are replaced by ammonium lactate. In this medium there is a development but no formation of carotene. The presence of sodium acetate gives a normal carotenoid formation. The acetate reacts like a precursor of the carotene of *Phycomyces*.

Die Aminosäure-Zusammensetzung der Kapselsubstanz der Milzbrandbazillen und der serologisch identischen spezifischen Substanz des *Bacillus mesentericus*

Schon im Jahre 1937 haben IVÁNOVICS und BRUCKNER^{1,2} gezeigt, daß die immunspezifische Kapselsubstanz der Milzbrandbazillen und die serologisch identische spezifische Substanz verschiedener, der *Mesentericus*-Gruppe angehörender Sporeenträger in chemisch einheitlicher Form abgetrennt werden kann. Diese Substanz stellt ein aus *d*-(-)-Glutaminsäureresten aufgebautes Polypeptid dar, welches in hoher Ausbeute zu reiner, als Naturprodukt nicht bekannter *d*-(-)-Glutaminsäure hydrolysiert werden konnte². BRUCKNER und Kovács OSKOLÁS³ haben später aus den Analysenwerten der Kapselsubstanz, sowie dem Ausbleiben der Biuretreaktion und dem Charakter der Strömungsdoppelbrechung der Kapselsubstanzlösung den Schluß gezogen, daß im Polypeptid die *d*-Glutaminsäurereste durch α -Peptidbindungen verkettet sind, stellenweise jedoch (etwa bis zu 13–15 %) die γ -ständigen Carboxylgruppen nicht frei, sondern zu Pyrrolidonringen kondensiert vorliegen dürften. Gleichzeitig wurde auch die Vermutung ausgesprochen, daß das Polypeptid außer *d*-Glutaminsäure anscheinend keine anderen Aminosäuren enthält.

HANBY und RYDON⁴ schienen die letzterwähnten Untersuchungen übersehen zu haben, und werfen die Frage der Konstitution des nativen *d*-(-)-Glutaminsäure-Polypeptids erneut auf. Auf Grund ihrer Untersuchungen gelangen sie zu der Feststellung, daß in dem kettenförmigen Polypeptidmolekül γ -Bindungen tatsächlich vorkommen, doch führen sie dies nicht auf das Auftreten von Pyrrolidonringen zurück. Im kettenförmigen Polypeptidmolekül wurde die Gegenwart von γ -Bindungen neuerdings auch von anderer Seite bestätigt⁵.

BRUCKNER und seine Mitarbeiter² konnten bei ihren Untersuchungen auf verhältnismäßig einfachem präparativem Wege eine 86 %ige Ausbeute an *d*-(-)-Glutaminsäure erzielen, während HANBY und RYDON⁴ mit Hilfe von analytischen Methoden nachgewiesen haben, daß $99,5 \pm 1,5\%$ des Gesamtstickstoffs der Kapselsubstanz in Form von Glutaminsäure vorliegt. Die bei-

den letzten Autoren untersuchten das acetylierte Hydrolysat der Kapselsubstanz auf fremde Bestandteile durch Verteilungs-Chromatographie an einer Silicagel-Kolonne. Es ließ sich hierbei die Gegenwart einer ganzen Reihe von Aminosäuren ausschließen. Etwaiges Glycin und Asparaginsäure sind jedoch bei dieser Untersuchungsmethode nicht nachweisbar. Ich habe daher zwecks Feststellung der genauen qualitativen Aminosäure-Zusammensetzung der Kapselsubstanz die schadende zweidimensionale Papierchromatographie¹ verwendet, die den Nachweis sogar von Spuren fremder Aminosäuren ermöglicht. Mein Verfahren war folgendes:

Von im Vakuum getrockneter Kapselsubstanz wurden 63,5 mg mit 1 cm³ 2 n HCl in einem Schießrohr 5 Stunden lang auf 120° erhitzt, dann die Salzsäure in der üblichen Weise in Vakuum vertrieben und der Rest auf 2,0 cm³ verdünnt. Ungefähr 0,004 cm³ dieser Lösung wurde auf einem «Schleicher & Schüll Nr. 604»-Papier in der einen Richtung mit Phenol-Wasser System (+ 0,1 % NH₃, KCN und Cupron), in der anderen mit Butanol-Wasser-Eisessig System aufsteigend chromatographiert. Die Lösungsmittelfront legte in beiden Richtungen eine Strecke von je 25 cm zurück. Nach dem Trocknen und Färben mit Ninhydrin erschien auf dem Chromatogramm nur ein einziger runder Fleck, der sich mit Glutaminsäure identifizierte ließ. Die Gegenwart von Pyrrolidoncarbonsäure ließ sich nicht nachweisen². Da jedoch während der Säure Hydrolyse eine Zyklierung der Glutaminsäure, wie auch das Öffnen ursprünglich etwa vorhandener Pyrrolidonringe nicht von vornherein ausgeschlossen bleibt, erlaubt die verwendete Methode keine Aussage bezüglich der Pyrrolidoncarbonsäure im Polypeptid. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache kann auf Grund des erzielten Ergebnisses, in voller Übereinstimmung mit BRUCKNER und seinen Mitarbeitern², festgestellt werden, daß die Kapselsubstanz ein vollständig aus Glutaminsäure-Bausteinen bestehendes Polypeptid ist.

Ich möchte Herrn Prof. BRUCKNER für sein Entgegenkommen, sowie Herrn Prof. IVÁNOVICS für die zur Verfügung gestellte Kapselsubstanz auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen.

G. PONGOR

Organisch-chemisches Institut der Universität Budapest, den 16. Mai 1950.

Summary

The capsular substance of *Bac. anthrax* and the serologically identical specific substance produced by *Bac. mesentericus* were investigated by two-dimensional paper-chromatography of the hydrolysate. The earlier statement^{3,4} that this substance is a polypeptide composed exclusively of *d*-glutamic acid units was fully confirmed.

¹ Vgl. A. J. WOIWOD, J. Gen. Bacteriology 3, 312 (1949).

² Vgl. C. E. DENT, Bioch. J. 43, 178 (1948). — J. AWAPARA, J. Biol. Chem. 178, 113 (1949).

³ G. IVÁNOVICS und V. BRUCKNER, Naturwissenschaften 25, 250 (1937); Z. Immunitätsforschung 90, 304; 91, 175 (1937); 93, 119 (1938); Z. phys. Chem. 247, 281 (1937). — V. BRUCKNER, G. IVÁNOVICS und M. Kovács OSKOLÁS, Magyar Chem. Folyóirat 45, 131 (1939); vgl. Chem. Zentr. 1, 3280 (1940) und Chem. Abstr. 34, 3766 (1940).

⁴ G. IVÁNOVICS und V. BRUCKNER, Z. phys. Chem. 247, 281 (1937).

— V. BRUCKNER, G. IVÁNOVICS und M. Kovács OSKOLÁS, Magyar Chem. Folyóirat 45, 131 (1939); vgl. Chem. Zentr. 1, 3280 (1940) und Chem. Abstr. 34, 3766 (1940).

⁵ V. BRUCKNER und M. Kovács OSKOLÁS, Acta Univ. Szegediensis (Chem. et Phys.) 1, 144 (1943); Chem. Abstr. 41, 7423f (1947).

⁶ W. E. HANBY und H. N. RYDON, Bioch. J. 40, 297 (1946).

⁷ F. HAUROWITZ und F. BURSA, Bioch. J. 44, 509 (1949).