

Über das Vorkommen
peptolytischer Fermente
bei den Wirbellosen

von

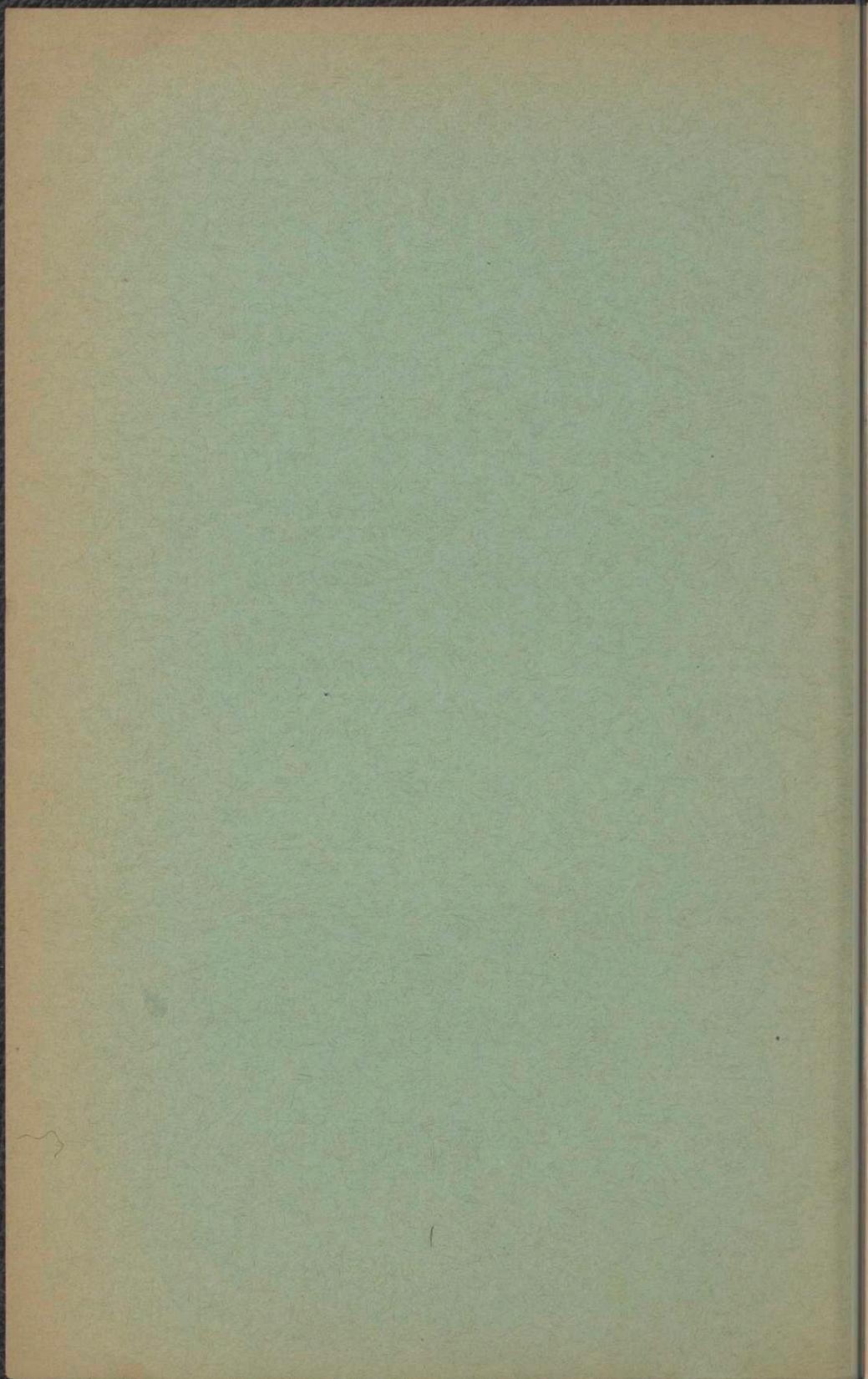
Robert Heise.



Berlin

1911

✓
1955/71



Aus dem Physiologischen Institut
der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. E. Abderhalden.)

Über das Vorkommen peptolytischer Fermente bei den Wirbellosen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines

Doctor Medicinae Veterinariae

der

Königlichen Tierärztlichen Hochschule
zu Berlin

vorgelegt von

Robert Heise,

approb. Tierarzt und Unterveterinär.

Ahrweiler 1911.

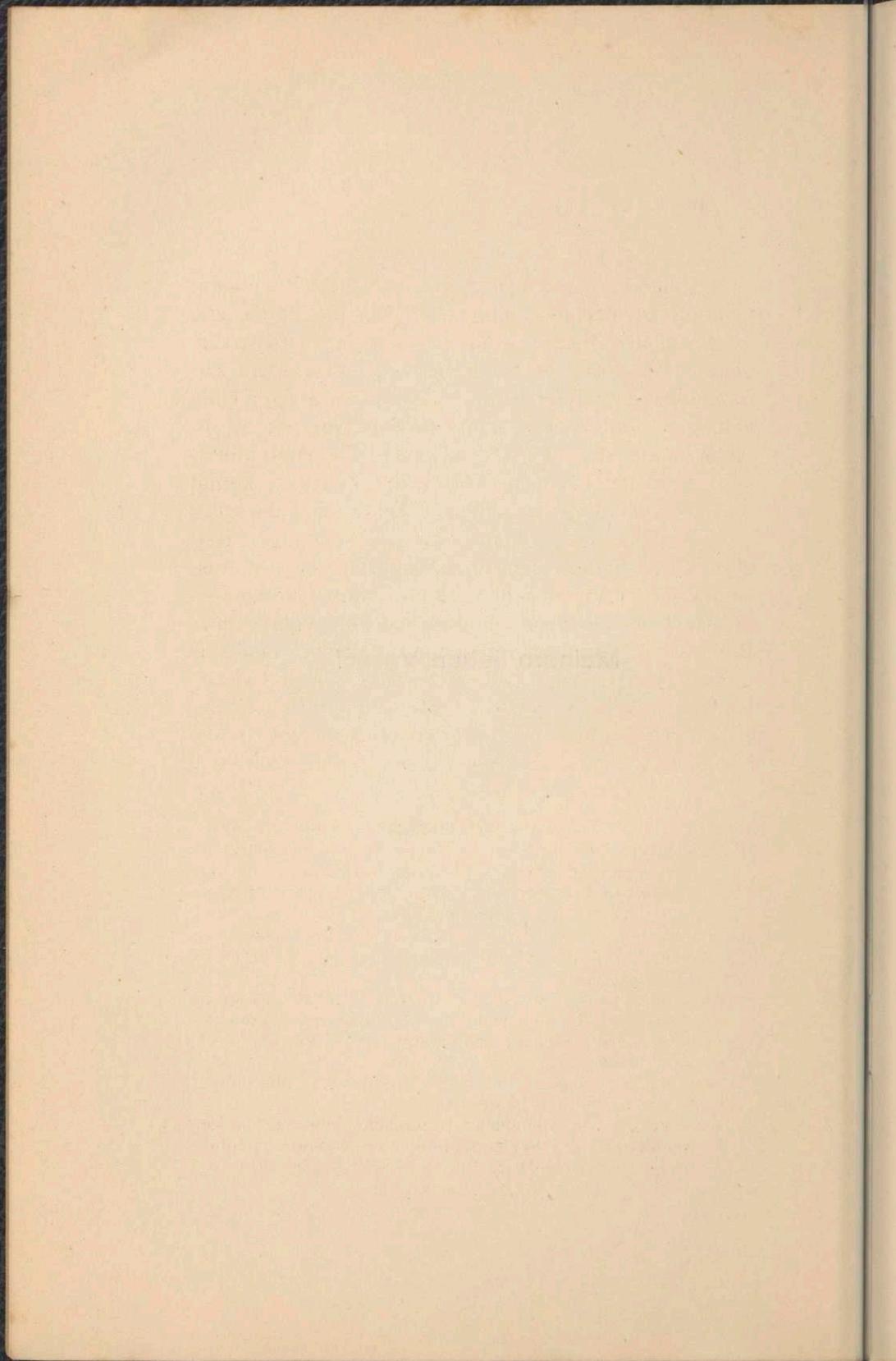
Buchdruckerei Adolph Kirfel.



Gedruckt mit Genehmigung der Königlichen Tierärztlichen
Hochschule zu Berlin.

Referent: Prof. Dr. Abderhalden.

Meinem lieben Vater!



Unter Fermenten versteht man nach heutigem Standpunkte der physiologischen Chemie Stoffe, die in geringster Menge große Umsetzungen bewirken, ohne im Endprodukt zu erscheinen. In reinem Zustande sie zu isolieren ist noch in keinem einzigen Falle gelungen. Ihre Anwesenheit erkennen wir nur an ihrer Wirkung, die allein entscheidet. Sie sind unmittelbar mit den Lebensprozessen der Zellen verknüpft und als Sekretionsprodukte der Zellen aufzufassen.¹⁾

Wie durch eine Reihe von Untersuchungen festgestellt ist, finden sich im Darmkanal — mit Ausnahme seines Anfangsteiles, mit Einschluß des Magens²⁾ — der Wirbeltiere Fermente, welche Polypeptide unter Bildung von Aminosäuren spalten. Gleiches Spaltvermögen besitzen auch, wie Abderhalden nachgewiesen hat, die sowohl in normalen wie pathologischen Geweben der Wirbeltiere vorkommenden peptolytischen Fermente.³⁾ Diese Untersuchungen erstreckten sich

¹⁾ Abderhalden: Lehrb. d. physiologischen Chemie. S. 493.

²⁾ Abderhalden. Medigreceanu. Hoppe Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie: Über das Vorkommen von peptolytischen Fermenten des Mageninhaltes und ihr Nachweis. Bd. 57, S. 317, Jahrg. 1908.

³⁾ Abderhalden: Notiz zum Nachweis peptolytischer Fermente in Tier- und Pflanzengewebe H. S. Bd. 66, S. 137, Jahrg. 1910.

Abderhalden und Pincussohn: Über den Gehalt des Kaninchen- und Hundeplasmas an peptolytischen Fermenten unter verschiedenen Bedingungen H. S. Bd. 61, S. 199, Jahrg. 1909.

Abderhalden: Studien mit Hilfe der optischen Methode H. S. Bd. 64, S. 100, Jahrg. 1909.

Abderhalden und Steinbeck: Untersuchungen über die Verwendbarkeit des Seidenpeptons zum Nachweis peptolytischer Fermente H. S. Bd. 68, S. 312, Jahrg. 1910.

auf die Organe z. B. Niere, Lunge, Ovarium u. s. w., ferner auf das Blut, Blutplasma, sowie die verschiedenartigen Krebse und andere Tumorarten.¹⁾ Auch im Pflanzenreiche zeigten die Versuche von Abderhalden und Dammhahn peptolytische Fermente im keimenden Samen. Im Ruhestadium dagegen ließen sie sich nicht nachweisen. Jedoch lassen Beobachtungen ein Vorhandensein in höchstwahrscheinlich inaktivem Stadium vermuten.²⁾ Selbst bei den verschiedensten Bakterienarten konnte ein Abbau von Peptonen, wenn auch in sehr variierender Weise deutlich nachgewiesen werden.³⁾

Mir wurde nun die Aufgabe gestellt, derartige Fermente bei den Wirbellosen zu erforschen. Zu diesem Zwecke wurde jeder Stamm berücksichtigt und ein Vertreter der näheren Untersuchung in Bezug auf Spaltvermögen von Polypeptiden unterzogen. Um den Nachweis derartiger⁴⁾ Fermente zu führen, lassen sich zwei Wege einschlagen. Entweder man benutzt ein optischaktives Polypeptid oder ein racemisches, das asymmetrisch gespalten wird, und verfolgt das Drehungsvermögen der Lösung nach dem Zusatz des

1) Abderhalden und Pincussohn: Zur Kenntnis der peptolytischen Fermente verschiedenartiger Krebse und anderer Tumorarten.

Abderhalden und Rona: Zur Kenntnis der peptolytischen Fermente verschiedenartiger Krebse. H. S. Bd. 60, S. 416, Jahrg. 1909.

2) Abderhalden und Dammhahn: Über den Gehalt gekeimter und ungekeimter Samen verschiedener Pflanzenarten an peptolytischen Fermenten. H. S. Bd. 57, S. 332, Jahrg. 1908.

3) Abderhalden, Pincussohn und Walther: Untersuchungen über die Fermente verschiedener Bakterienarten. H. S. Bd. 68, S. 471, Jahrg. 1910.

4) Abderhalden: Ergebnisse und Ziele der Eiweiß-Forschung, S. 472.

Abderhalden: Abbau der Proteine, S. 368.

Abderhalden: Notizen zum Nachweis von peptolyt. Fermenten in Tier- und Pflanzengewebe, H. S. Bd. 64, S. 137, 1910.

entsprechenden Substrates. Die Fermenthydrolyse läßt sich dann ohne besondere Vorkehrung verfolgen, wenn man Polypeptide zur Untersuchung wählt, an deren Aufbau Aminosäuren beteiligt sind, die im Wasser sehr schwer löslich sind — wie z. B. Tyrosin — oder man nimmt Polypeptide, welche Tryptophan enthalten. Im ersten Falle beobachtet¹⁾ man einfach das Ausfallen der schwer löslichen Aminosäure und im zweiten Falle stellt man das Auftreten von freiem Tryptophan in der Verdauungsflüssigkeit mit Hilfe von Bromwasser fest. Diese letztere Methode gibt insofern nicht ganz einwandfreie Resultate, als auch in dem zugesetzten, auf Fermente zu untersuchenden Agens tryptophanhaltige Produkte — Proteine — vorhanden sein könnten, die dann ebenfalls als Quelle für Tryptophan in Betracht kämen.

Ich habe nur die eine Methode, nämlich die Abspaltung von Tyrosin, zu meinen Untersuchungen benutzt. Die ersten Versuche wurden mit einer 10 %igen Glycyl-Tyrosinlösung angestellt, die späteren mit einer 50 %igen aus Seide dargestellten tyrosinreichen Peptonlösung.

Die Anwendung des Peptons ist deshalb vorzuziehen, weil es in viel konzentrierterer Lösung verwendet werden kann, als das genannte Dipeptid. Bei den Untersuchungen ging ich so vor, daß ich die Tiere zunächst äußerlich durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung möglichst reinigte, den Darm herauspräparierte, ihn aufschnitt und seinen Inhalt möglichst entfernte. Waren die Tiere zu klein, um den Darm zu gewinnen, so wurde der ganze Organismus verwendet. Es wurden je 10 Versuche angestellt, und zwar unter gleichen Bedingungen. Jedesmal wurden

¹⁾ Abderhalden: Weiterer Beitrag z. Kenntnis d. bei der partiellen Hydrolyse von Proteinen auftretenden Spaltprodukten, H. S. Bd. 62, S. 315, 1909.

bestimmte Mengen des Darmes in die Lösung hineingehängt. Schon nach wenigen Stunden konnte ich bei Vorhandensein von peptolytischen Fermenten Abscheidung von Tyrosinkristallen beobachten. Zumeist bedeckte sich zunächst die Schleimhaut der Darmteile mit Kristallen. Allmählich erfüllte ein ganzes Kristallgewirr das Glas. Stets wurde unter Zusatz von Toluol und bei 37° C. gearbeitet. Über drei Tage wurde im allgemeinen die Beobachtung nicht ausgedehnt. In fast allen Fällen wurde nach wenigen Stunden der positive Ausfall des Versuches festgestellt. Alsdann wurden alle 10 Präparate des betreffenden Versuches abfiltriert, der Rückstand (I) mit einer entsprechenden Menge Wassers gekocht, Tierkohle zugesetzt und heiß filtriert. Allmählich beim Erkalten fielen die Tyrosinkristalle aus, die nach Abfiltrieren und Trocknen gewogen wurden. Nach Einengen der Lösung wurde jetzt der Rest des Tyrosins erhalten. Die so gewonnene Gesamtmenge (II) der Kristalle wurde gewogen und durch Anwendung des Millon'schen Reagens und die charakteristische Kristallform als Tyrosin erkannt.

Das Anfangs zurückgebliebene Filtrat (III) wurde eingedampft, getrocknet, gewogen, mit einer entsprechenden Menge absoluten Alkohols versetzt, Chlorwasserstoffsäure eingeleitet und in Kältemischung gestellt. Dann fielen Kristalle aus, die nach dem Trocknen sich als Glycocollesterchlorhydrat (IV) erwiesen und den Schmelzpunkt 140° hatten.

1) Abderhalden: Abbau der Proteine, S. 367.

2) Abderhalden: Allgem. Technik und Isolierung von Monnoaminosäuren. Totale Hydrolyse mittels Säure, S. 486.

Versuchsreihen.

Als Stammlösung wurde eine 10%ige Glycyl-
Ityrosinlösung verwendet.

1. *Blatta orientalis*. Küchenschabe.

Das Duodenum von je 6 Käfern kam in 1 ccm
der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer
4 Tage.

Der Rückstand (I) mit 25 ccm Wasser entspre-
chend behandelt, ergab 141,1 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 400,0 mg und zeigte sich
mit 10 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoff-
säure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

2. *Porthesia chrysorrhoea*. Goldafterraupe.

Das Duodenum von je 5 Raupen kam in 1 ccm
Wasser der Lösung.

10 Versuche wurden angefertigt. Versuchsdauer
4 Tage.

Der Rückstand (I) mit 25 ccm Wasser behandelt,
ergab 81,1 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 250 mg und zeigte sich
mit 10 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoff-
säure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

3. *Ascaris canis*. Spulwurm des Hundes.

Der Darm von je 5 Spulwürmern kam in 1 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 25 ccm Wasser behandelt, ergab 71,1 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat wog 220 mg und zeigte sich mit 12 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

Als Stammlösung dient eine 50%ige Peptonlösung.

4. *Libellula*. Libelle.

Je 5 Libellendärme kamen in 1 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 50 ccm Wasser behandelt, ergab 75 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 2,05 g und zeigte sich mit 25 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

5. Larve von *Tenebrio molitor*. Mehlwurm.

Je 6 Därme wirkten auf 1 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 40 ccm Wasser gekocht, ergab 15 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 1,8 g und zeigte sich mit 25 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

6. *Distomum hepaticum*. Leberegel.

Je 3 Därme der Leberegel wirkten auf ein ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt, Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 40 ccm Wasser versetzt ergab 15 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 2,17 g und zeigte sich mit 25 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

7. *Lumbricus terrestris*. Regenwurm.

Je ein Darm wirkte auf 1 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 50 ccm Wasser behandelt, ergab 175 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 2,3 g und zeigte sich mit 25 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

8. *Branchipus stagnalis*. Wasserfloh.

Je 50 in physiolog. Kochsalzlösung gewaschene Wasserflöhe wurden zerzupft und auf 1 ccm der Lösung zur Wirkung gebracht.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 20 ccm Wasser gekocht, ergab 30 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 2,2 g und zeigte sich mit 20 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

9. *Geotrupes stercorarius*. Mistkäfer.

Je 5 Därme der Käfer wirkten auf 1 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 40 ccm Wasser gekocht, ergab 80 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 2,5 g und zeigte sich mit 25 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

10. *Noctua graminis*. Graseule.

Je 5 Därme der Graseule kamen in 1 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 50 ccm Wasser behandelt, ergab 65 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 2,45 g und zeigte sich mit 25 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

11. *Pieris brassicae*. Kohlweißling.

Je 5 Därme des Kohlweißlings kamen in 1 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchsdauer 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 40 ccm Wasser behandelt, ergab 79 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 2,5 g und zeigte sich mit 25 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

12. *Hirudo medicinalis*. Bluteigel.

Je $\frac{1}{2}$ Darm kam in 0,2 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchszeit 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 25 ccm Wasser gekocht, ergab 22 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 360 mg und zeigte sich mit 8 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

13. *Echinaster sepositus*. Seestern.

Der Darm eines Seestern wird auf 10 Versuche gleichmäßig verteilt.

Jeder Versuch wird mit 0,2 ccm der Lösung angestellt. Versuchszeit 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 30 ccm Wasser behandelt, ergibt 21 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 410 mg und zeigte sich mit absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

14. *Cucumaria Planci*. Seegurke.

Der Darm einer Seegurke wird auf 10 Versuche von je 0,2 ccm der Lösung gleichmäßig verteilt. Versuchszeit 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 30 ccm Wasser gekocht, erzielt 10 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 370 mg und zeigte sich mit 10 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

15. Actinia equina. Fleischpolyp.

Der Darm eines Fleischpolypen wurde auf 10 Versuche mit je 0,2 ccm der Lösung gleichmäßig verteilt. Versuchszeit 3 Tage.

Es zeigten sich geringe Spuren von Tyrosin in allen Präparaten.

16. Astacus fluviatilis. Flusskrebs.

Je 1 Darm kam in 0,2 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt, Versuchszeit 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 30 ccm Wasser gekocht, ergab 35 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 790 mg und zeigte sich mit 10 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

17. Limax agrestis. Gartenschnecke.

Je 1 Darm kam in 0,2 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchszeit 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 25 ccm Wasser behandelt, ergab 20 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 520 mg und zeigte sich mit 10 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

18. Oniscus murarius. Mauerassel.

Je 4 Därme auf 0,2 ccm der Lösung.

10 Versuche wurden angestellt. Versuchszeit 3 Tage.

Der Rückstand (I) mit 25 ccm Wasser behandelt, ergab 24 mg Tyrosin (II).

Das Filtrat (III) wog 450 mg und zeigte sich mit 10 ccm absoluten Alkohols und Chlorwasserstoffsäure versetzt als Glycocollesterchlorhydrat.

Die Abstufungen der Versuche inbezug auf die verwendeten Mengen der Lösung sowie die grossen Unterschiede der Zahlenwerte bei den einzelnen Tieren beweisen, wie überaus genau man mittels dieser Methode das Vorhandensein und die Tätigkeit von polypeptidenspaltenden Fermenten verfolgen kann.

Systematische

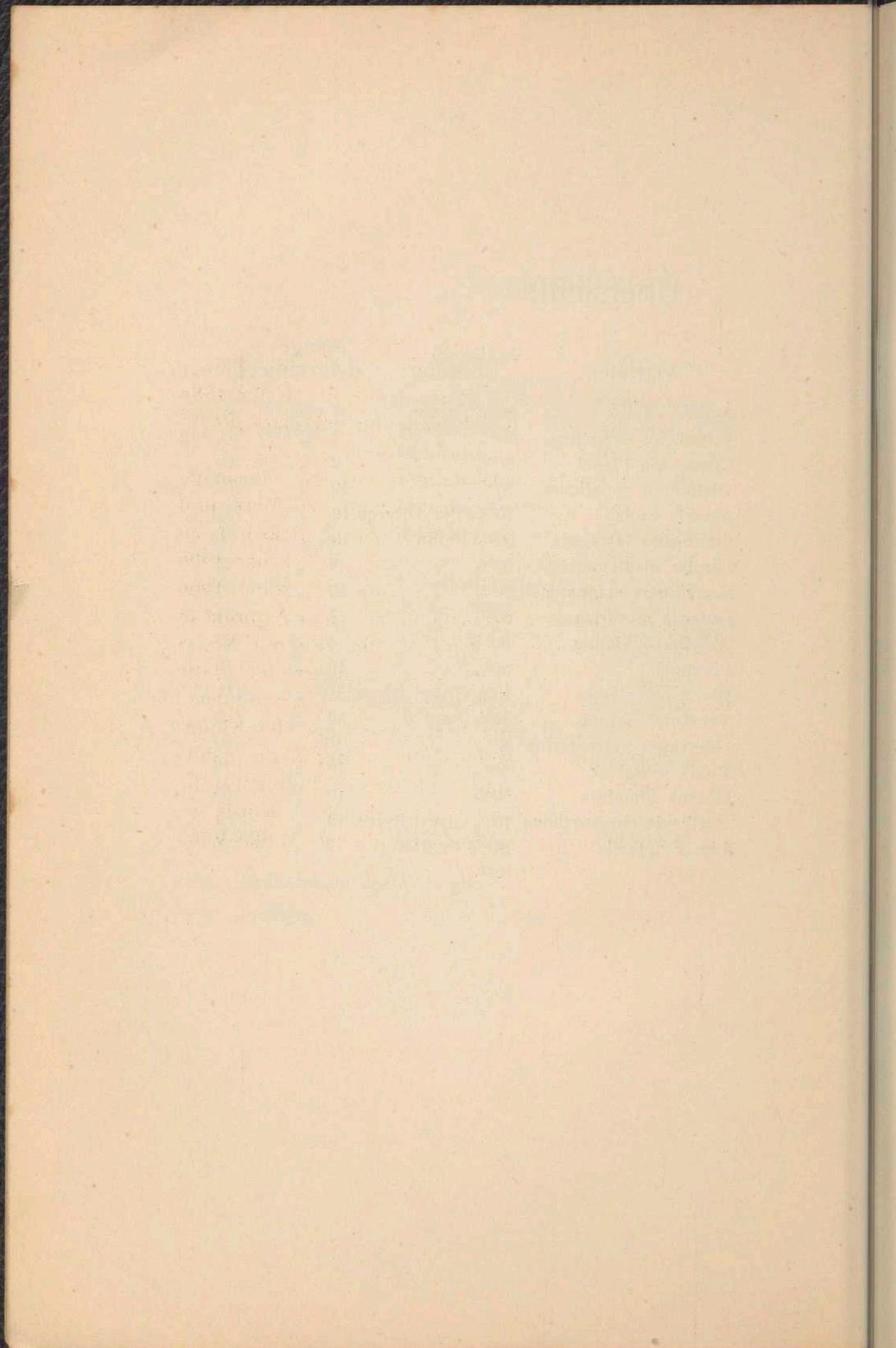
Stamm	Klasse	Ordnung
Coelenterata	Anthozoa	Hexakorallen
Echinodermata	Asteroiden	Asteriden
„	Holothurien	Pedata
Vermes	Plathelminthen	Trematoden
„	Nemathelminthen	Nematoden
„	Anneliden	Chaetopoden
„	„	Hirudineen
Arthropoda	Entomostraca	Phyllopoden
„	Malacostraca	Isopoden
„	Thoracostraca	Podophthalmata
„	Insectae	Archiptera
„	„	Orthoptera
„	„	Coleoptera
„	„	„
„	„	Lepidoptera
„	„	„
„	„	„
Mollusca	Gastropoda	Pulmonata

Keller: Grundlehren der Zoologie.

Boas: Zoologie.

Übersicht.

Vertreter	Lösung	Menge d. Lösung	Tyrosin
<i>Actinia equina</i>	50 ⁰ / ₀ Pepton	2 ccm	Spuren
<i>Echinaster sepositus</i>	50 ⁰ / ₀ "	2 "	21 mg
<i>Cucumaria Planci</i>	50 ⁰ / ₀ "	2 "	10 "
<i>Distomum hepaticum</i>	50 ⁰ / ₀ "	10 "	15 "
<i>Ascaris canis</i>	10 ⁰ / ₀ Glycyl-Ityros.	10 "	71,1 "
<i>Lumbricus terrestris</i>	50 ⁰ / ₀ Peton	10 "	175 "
<i>Hirudo medicinalis</i>	50 ⁰ / ₀ "	2 "	22 "
<i>Branchipus stagnalis</i>	50 ⁰ / ₀ "	10 "	30 "
<i>Oniscus murarius</i>	50 ⁰ / ₀ "	2 "	24 "
<i>Astacus fluviatilis</i>	50 ⁰ / ₀ "	2 "	35 "
<i>Libellula</i>	50 ⁰ / ₀ "	10 "	75 "
<i>Blatta orientalis</i>	10 ⁰ / ₀ Glycyl-Ityros.	10 "	141,1 "
<i>Tenebrio molitor</i>	50 ⁰ / ₀ Pepton	10 "	15 "
<i>Geotrupes stercorarius</i>	50 ⁰ / ₀ "	10 "	80 "
<i>Pieris brassicae</i>	50 ⁰ / ₀ "	10 "	79 "
<i>Noctua graminis</i>	50 ⁰ / ₀ "	10 "	65 "
<i>Porthesia chrysorrhoea</i>	10 ⁰ / ₀ Glycyl-Ityros.	10 "	81,1 "
<i>Limax agrestis</i>	50 ⁰ / ₀ Pepton	2 "	20 "



Lebenslauf.

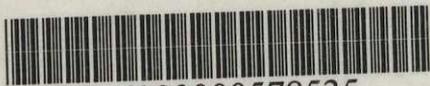
Ich, Robert Paul Heise, bin am 3. Mai 1886 zu Köln als Sohn des Intendantur-Sekretärs, Rechnungsrats Ernst Heise, geboren.

In der katholischen Religion erzogen, besuchte ich bis zum Jahre 1900 das Lyzeum zu Metz und bis zum Jahre 1906 das Königliche Gymnasium an St. Aposteln zu Köln, wo ich am 14. Februar 1906 das Zeugnis der Reife erhielt. Am 1. Oktober 1906 trat ich als Einjährig-Freiwilliger Veterinär-Aspirant in das Kürassier-Regiment Graf Geßler (Rhein.) No. 8 ein und wurde ein Jahr später als Studierender an die Königliche Militär-Veterinär-Akademie übernommen.

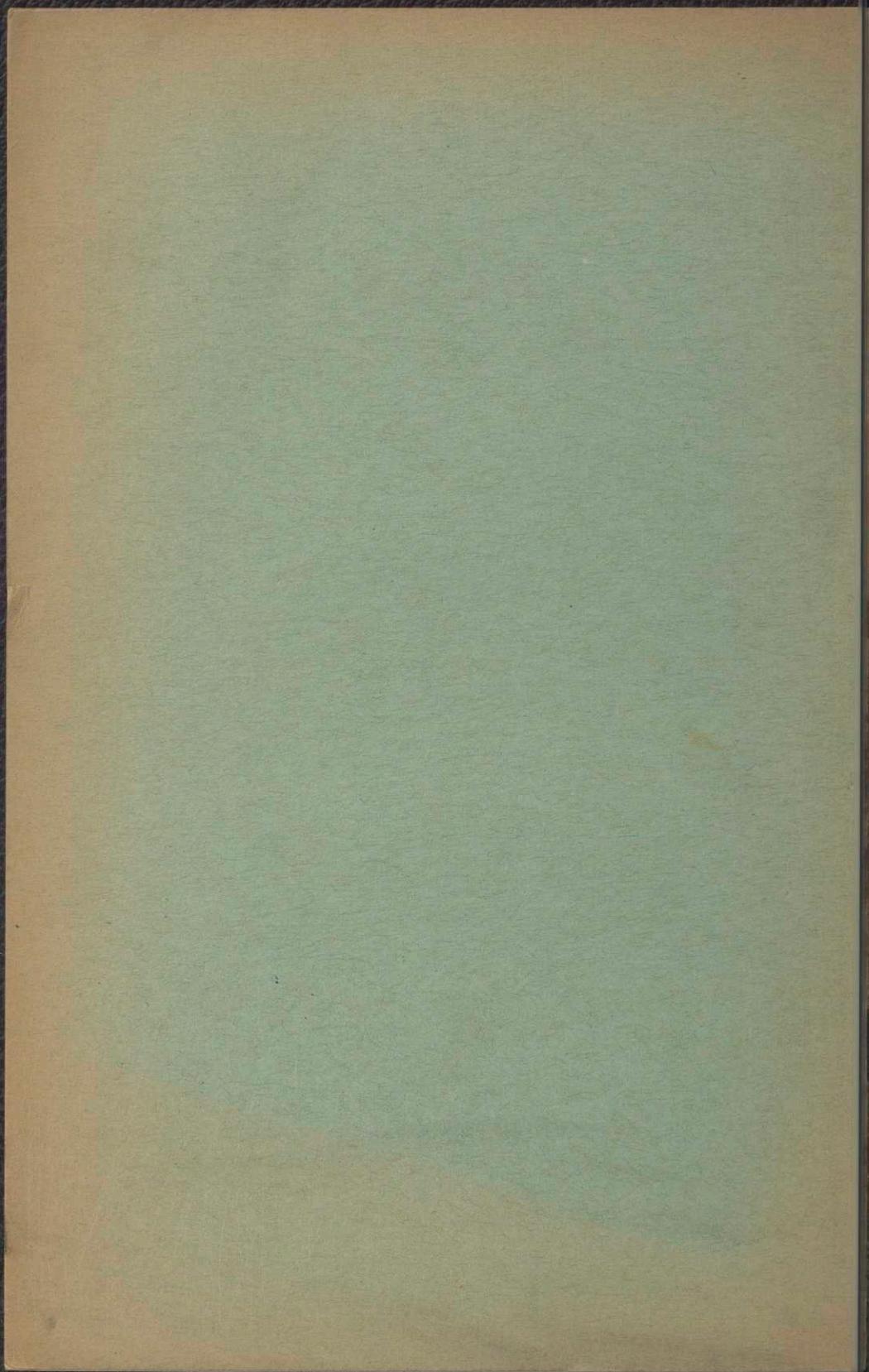
Am 29. April 1909 bestand ich an der Königlichen Tierärztlichen Hochschule zu Berlin die naturwissenschaftliche Prüfung und am 30. Juni 1911 die Tierärztliche Fachprüfung. Am 4. Juli 1911 wurde ich zum Unterveterinär an der Königlichen Militär-Veterinär-Akademie befördert.

Abstract

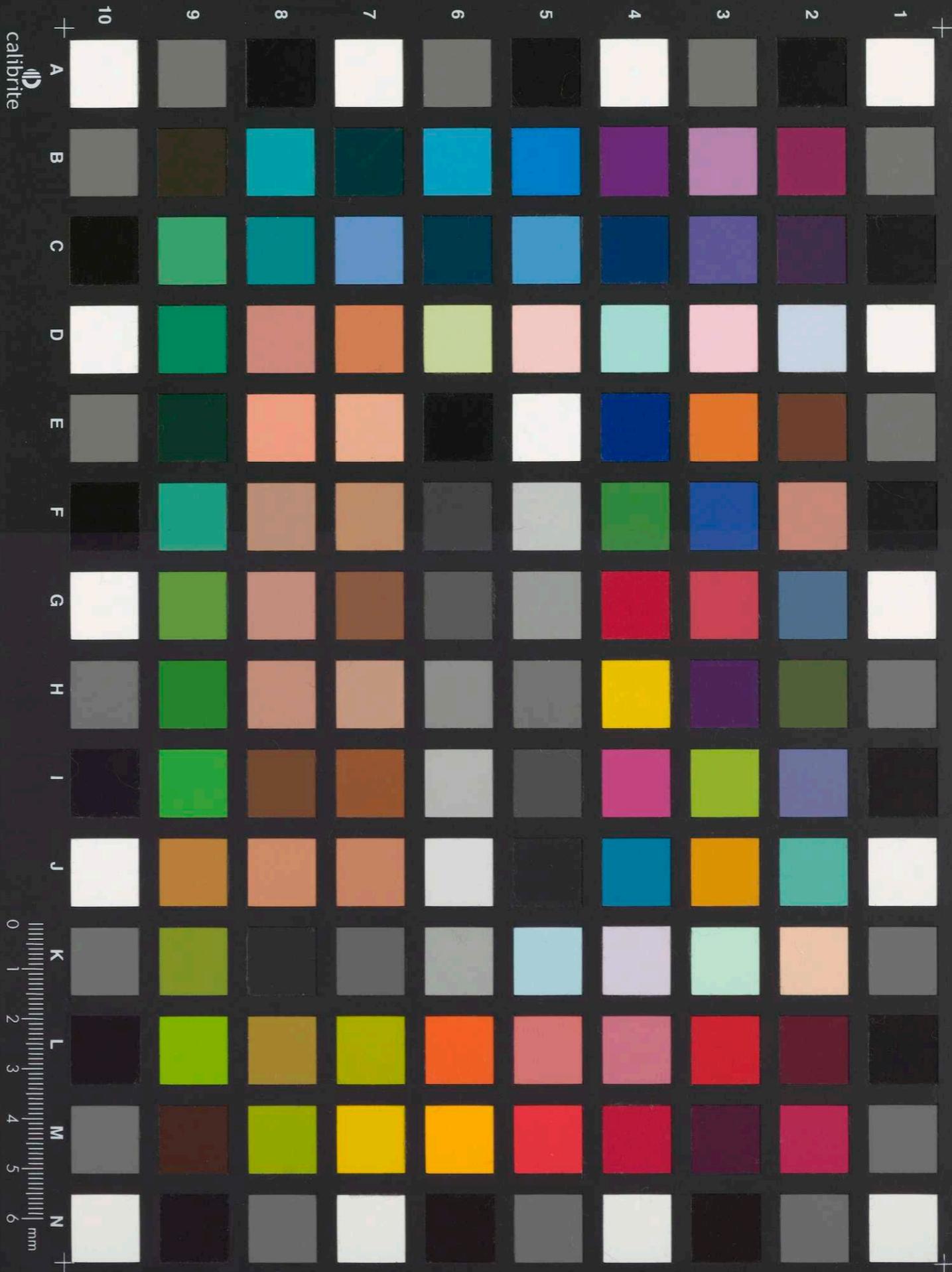
The following abstract describes the results of a study conducted in the field of [illegible] research. The study was designed to investigate the relationship between [illegible] and [illegible]. The methodology employed was [illegible], and the results showed that [illegible]. These findings have significant implications for [illegible] and suggest that [illegible]. Further research is needed to explore [illegible] and to determine the underlying mechanisms of [illegible].



846000000578535



colorchecker DIGITAL SG



Freie Universität



Berlin