Über die Hefenucleinsäure.

II. Mitteilung¹⁾.

Von

H. Stendel und E. Peiser.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität in Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. Januar 1921.)

Unsere bisherigen Untersuchungen über die Hefenucleinsäure, die wir an einem Handelspräparat, dem hefenucleinsauren Natrium der Firma C. F. Böhringer und Söhne in Mannheim²⁾, angestellt haben, hatten ergeben, daß dieses bisher für einheitlich gehaltene Präparat sich in mehrere Fraktionen zerlegen läßt, die sich durch die Löslichkeit der Baryumsalze und durch ihren Phosphor- und Stickstoffgehalt voneinander unterscheiden. Das Verhältnis von P : N erstreckte sich von 1 : 2,09 bis zu 1 : 0,87 und wir hatten die Ansicht geäußert, daß außer einer echten Nucleinsäure auch noch einfache Nucleinsäuren in dem Präparat vorhanden wären.

Bei der Thymusnucleinsäure hatte eine analoge Untersuchung zu dem Resultat geführt, daß wir hier keine voneinander verschiedene Fraktionen gewinnen konnten.

Wir haben diese Frage nun weiter verfolgt und statt der in Wasser relativ schwer löslichen Baryumsalze die leicht löslichen Natriumsalze der Hefenucleinsäure gewählt. Es läßt sich dann leicht feststellen, daß das von uns benutzte Präparat Guanylsäure enthält, die man ohne Schwierigkeit erhalten kann, wenn man die Schwerlöslichkeit des guanylsauren Natriums in konzentrierter Natriumacetatlösung ausnutzt, eine

¹⁾ I. Mitteilung: Diese Zeitschr. Bd. 108, S. 42.

²⁾ Das Präparat hatte uns die Firma freundlichst zur Verfügung gestellt, wofür wir ihr auch hier bestens danken.

Reaktion, mit deren Hilfe Feulgen¹⁾ im hiesigen Laboratorium die Trennung der Guanylsäure von der echten Nucleinsäure gelungen ist.

50 g hefenucleinsaures Natrium werden in möglichst wenig Wasser gelöst und mit festem Natriumacetat bis fast zur Sättigung versetzt. Es entsteht ein weißer Niederschlag, der nach mehrstündigem Stehen in der Kälte ausgeschleudert wird und noch einige Male aus heißer 20 %iger Natriumacetatlösung umgelöst wird. Löst man nun nach dem Vorgange von Feulgen²⁾ den Niederschlag in Natronlauge und fällt mit dem dreibis vierfachen Volumen 96 %igen Alkohols, so fällt zunächst ein Öl aus, das aber allmählich kristallinisch erstarrt. Die darüberstehende Flüssigkeit ist nach mehrtägigem Stehen angefüllt mit einem dichten Gewirr langer, lockerer, prismatischer Nadeln. Die Kristalle werden dann abgesaugt und mit absolutem Alkohol getrocknet. Ausbeute ca. 6—7 g.

Löst man das Öl, nachdem man die Mutterlauge abgossen hat, in wenigen Kubikzentimetern Wasser und läßt die visköse Flüssigkeit langsam im Exsikkator verdunsten, so erhält man zentimetergroße Kristallplatten, die sich aus einzelnen prismatischen Nadeln zusammensetzen.

Die Analysen der exsikkatortrocknen Substanz gaben folgende Zahlen:

0,2885	= 28,2 ccm	n/2-NaOH	= 5,34 % P (Neumann).
0,2381	= 23,3 ccm	" "	= 5,42 % P "
0,1860	= 15,5 ccm	n/10-H ₂ SO ₄	= 11,66 % N (Kjeldahl).
0,2328	= 19,0 ccm	" "	= 11,42 % N "

Berechnet man sich für die Durchschnittswerte 5,38 % P und 11,54 % N das Verhältnis von P : N, so erhält man 1 : 2,14, verlangt ist für P : 5 N = 1 : 2,26. Da das gleiche Verhältnis von P : N aber sowohl für die Guanylsäure wie die Adenylsäure gilt, so haben wir 1,2 g der Substanz mit Schwefelsäure³⁾ gespalten. Die Reaktionsflüssigkeit gab starke Diazoreaktion und lieferte nach dem Übersättigen mit Ammoniak

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 108, S. 147.

²⁾ Diese Zeitschr. Bd. 111, S. 257.

³⁾ Diese Zeitschr. Bd. 53, S. 541.

und Einengen auf die Hälfte 0,25 g eines amorphen Niederschlages, der alle Eigenschaften des Guanins besaß.

Berechnet ist für $C_{10}H_{11}O_8N_5PNa_3$ ein Gehalt von 35,20 % Guanin.
Gefunden für 0,7177 wasserfreie Substanz (aus dem N-Gehalt berechnet)
34,84 % Guanin.

Die Kristalle sind also zweifellos das basische Natriumsalz der Guanylsäure, die in einer Menge von etwa 12—14 % in dem von uns untersuchten Präparat vorhanden ist. Die hier beschriebenen Verhältnisse gelten selbstverständlich nur für das von uns benutzte Präparat. Man kann sich sehr gut vorstellen, daß andere Präparate sich nicht genau so verhalten werden, denn die als Ausgangsmaterial verwandte Hefe wird sicher nicht immer in demselben physiologischen Zustand sein.

Eine Abspaltung der Guanylsäure ist bei der von uns benutzten Trennungsmethode (Ausfällen mit Natriumacetat) wohl so gut wie ausgeschlossen.

Wir haben nunmehr in dem hefenucleinsäuren Natrium, wie es von der Mannheimer Fabrik geliefert wird, ein bequemes Material zur Gewinnung der Guanylsäure, die man bis jetzt nur durch ein umständliches Verfahren aus dem Pankreasproteid von Hammarsten darstellen konnte.

Andererseits muß man sich die Frage stellen, ob die Guanylsäure der einzige Körper ist, der in dem Handelspräparat neben der echten Nucleinsäure vorkommt, oder ob nicht noch verschiedene andere Körper, die als hydrolytische Spaltprodukte der Hefenucleinsäure beschrieben sind, dieser nur beigemengt sind. Unsere früheren Analysen scheinen z. B. darauf hinzuweisen, daß in dem Präparat auch die Uridinphosphorsäure primär vorhanden ist. Aber auch schon jetzt gewinnt die Frage nach der Reindarstellung und der Zusammensetzung der Hefenucleinsäure ein erhöhtes Interesse.

Solche Untersuchungen denken wir demnächst auszuführen. Für die Arbeit standen uns Mittel aus der Gräfin-Bose-Stiftung zur Verfügung, für deren Bewilligung wir dem Kuratorium unsern besten Dank sagen.