

XV.

Arbeiten aus dem pharmakologischen Institut der deutschen
Universität zu Prag.

49. Ueber die Eiweisskörper des Muskelplasmas.

Von

Dr. Otto v. Fürth.

Die Wirkung jener Muskelgifte, welche eine dauernde Veränderung der contractilen Substanz, sei es im Sinne eines Verlustes der Erregbarkeit, sei es im Sinne eines abnormen Ablaufes der Contraction oder bleibender Starre, veranlassen, giebt der Deutung Raum, dass es sich dabei um eine chemische Veränderung des anatomischen Substrats der Contraction, in erster Linie der Eiweisskörper des Muskels handelt. Versuche in dieser Richtung setzen eine genaue Kenntniss dieser Eiweissstoffe voraus. Wie die Durchsicht der Literatur lehrt, ist die Zahl der feststehenden einschlägigen Angaben keine allzugrosse. Insbesondere in den wichtigsten Arbeiten, die sich mit diesem Gegenstand beschäftigen, jenen von Kühne und von Halliburton, treten betreffs entscheidender Punkte widersprechende Auffassungen hervor. Durch diesen Sachverhalt sah ich mich, als ich eine Untersuchung über die Wirkung Muskelstarre erzeugender Gifte in Angriff nahm, bald gezwungen, die Frage betreffend der Eigenschaften und gegenseitigen Beziehungen der Eiweisskörper des Muskels und zwar zunächst des Muskelplasmas, einer neuerlichen Bearbeitung zu unterziehen. Mit den Veränderungen der Eiweisskörper des Muskels durch chemische Agentien beabsichtige ich mich in einer weiteren Mittheilung zu beschäftigen.

Bevor ich auf die Besprechung des Gegenstandes eingehe, möchte ich einige Worte über die Terminologie desselben vorausschicken.

Kühne¹⁾, der Begründer dieses Kapitels der Physiologie, stellte dem spontan gerinnenden Bestandtheile des Muskelplasmas, dem

1) Monatsberichte der kgl. preuss. Akademie d. Wissensch. zu Berlin 1859. — Archiv f. Anat. u. Phys. 1859. — Myologische Untersuchungen. Leipzig 1860. — Untersuchungen über Protoplasma und die Contractilität. Leipzig 1864. — Lehrbuch der physiol. Chemie. Leipzig 1868.

Myosin, die Eiweisskörper des Muskelserums gegenüber und unterschied in dem Letzteren:

1. einen bei 45° ausfallenden Körper,
2. Kalialbuminat,
3. einen bei 70—75° coagulirenden Körper, das Serumalbumin.

Eine Reihe von Autoren, welche, auf dem von Kühne gewiesenen Wege fortschreitend, dieses Gebiet bearbeiteten, behielten diese Terminologie bei.

Halliburton¹⁾ gelangte in seiner umfassenden Untersuchung „On Muscle-Plasma“ zur Aufstellung folgender chemischer Individuen:

1. Paramyosinogen, bei 47° gerinnend,
2. Myosinogen, bei 56° gerinnend.

Beide Körper zusammen bilden, unter gewissen Bedingungen, den spontan gerinnenden Antheil des Plasmas, das Myosin.

Diesen Substanzen gegenüber stehen die Bestandtheile des Muskelserums:

3. Myoglobulin, bei 63° gerinnend,
4. Myoalbumin, bei 73° gerinnend,
5. Albumose.

Ich werde mich zunächst der Terminologie Halliburton's bedienen, da dieselbe die Verschiedenheit der beiden Hauptbestandtheile des Muskelplasmas schärfer präcisirt.

Es sei mir gestattet, eine Uebersicht der Anordnung des Stoffes voranzuschicken:

- I. Gewinnung des Muskelplasmas.
- II. Darstellung und Eigenschaften des Paramyosinogens.
- III. Darstellung und Eigenschaften des Myosinogens.
- IV. Die spontan gerinnenden Bestandtheile des Muskelplasmas.
- V. Die übrigen Eiweisskörper: Albumin, Myoglobulin, Myoalbumose und das Myoproteid des Fischfleisches.
- VI. Quantitatives Verhältniss der Plasmaeiweisskörper.
- VII. Ueberblick. Beziehungen der Eiweisskörper des Muskelplasmas zu einander und zum Myosin der Autoren.

I. Die Gewinnung des Muskelplasmas.

Das von mir angewandte Verfahren zur Bereitung des Plasmas schliesst sich in seinen Grundzügen der Methode an, die von Kühne angegeben, von Halliburton modificirt worden ist.

¹⁾ On Muscle-Plasma. Journ. of Physiol. VIII. 1887. — Proc. roy. soc. XLII. — Lehrbuch der chem. Physiologie und Pathologie, deutsch von Kaiser, Heidelberg 1893.

Als Versuchsthiere dienten, in der grossen Mehrzahl der Versuche, Kaninchen. Einige Versuche wurden an Hunden, Fischen und Fröschen ausgeführt.

Um blutfreies Muskelplasma von Kaninchen zu gewinnen, wurde denselben zunächst 250—400 ccm physiologischer Chlornatriumlösung von 35—40° durch die Vena jugularis eingeflösst. Wird ein zu rasches Einströmen vermieden, so vertragen die Thiere die Infusion dieses Flüssigkeitsquantum ganz gut, nur stellt sich nach der Eingiessung von 100 bis 200 ccm in der Regel ein Zittern der gesammten Musculatur ein, welches sich später zu einem intensiven Schwirren steigert. Tritt stärkere Arrhythmie oder Verlangsamung der Herzaction ein, so wird die Infusion für die Dauer einiger Minuten unterbrochen.

Nach vollendeter Infusion schreitet man zur Verblutung; es ist zu beachten, dass dieselbe zu einer Zeit eingeleitet werden soll, wo die Herzaction noch kräftig ist. Während das Blut ausströmt, wird gewärmte Chlornatriumlösung, nunmehr aber möglichst schnell, durch die Jugularvene nachfliessen gelassen und gleichzeitig die Herzaction durch energische Thoraxmassage gefördert. Der Tod tritt nun bald ein, gewöhnlich unter mehr oder minder heftigen clonisch-tonischen Krämpfen, doch gelingt es meist noch vorher, 300—600 ccm der Salzlösung einzufliessen.

Sofort nach dem Tode wird das Abdomen eröffnet, die Aorta abdominalis freipräparirt und in dieselbe, unterhalb des Abganges der Nierenarterien, eine Canüle in der Richtung des Blutstromes eingebunden. Eine andere Canüle wird in der Vena cava inferior fixirt. Mittelst einer grossen, 250 ccm fassenden Bürette wird nun ein Strom physiologischer Chlornatriumlösung in die untere Körperhälfte so lange getrieben, bis eine ganz klare Flüssigkeit aus der unteren Hohlvene abfliesst. Abwechselnde Beuge- und Streckbewegungen, mit den hinteren Extremitäten des Thieres ausgeführt, beschleunigen die Durchschwemmung.

Gewöhnlich genügt es, 600—1200 ccm der Chlornatriumlösung durch die Aorta einzugiessen; zuweilen verbraucht man aber über 2000 ccm.

Die Muskeln, welche ödematös, und mit Ausnahme der rothen Muskeln, von wachartiger Blässe sind, werden sogleich mit dem Wiegemesser zerkleinert. Die Benutzung einer Fleischhackmaschine empfiehlt sich weniger, da durch dieselbe die Muskelbündel mehr gequetscht und gezerzt, als durchschnitten werden, während es gerade hier darauf ankommt, das Austreten des Muskelplasmas aus den Sarcolemmschläuchen zu ermöglichen.

Die möglichst fein zerhackten Muskeln werden mit 0,6 proc. Chlornatriumlösung, oder ohne dieselbe, unter Zusatz von Bimstein verrieben. Der Muskelbrei wird entweder sofort oder nach längerem Stehen im Eisschranke, je nach der Versuchsanordnung, in ein starkes Colirtuch eingeschlagen und mittelst einer grossen eisernen Tincturenpresse einem langsam gesteigerten Drucke unterworfen. Die aufgefangene Flüssigkeit wird durch ein grosses Faltenfilter gegossen und entweder sofort verarbeitet, oder aber bis zur Verarbeitung im Eisschranke aufbewahrt.

Das beschriebene Verfahren weicht in einigen wesentlichen Punkten von der von Halliburton geübten Methode ab.

1. Bezüglich des Vorganges bei der Ausblutung. Halliburton hat die Thiere direct durch Verblutung aus der Carotis getödtet und sodann von der Aorta abdominalis aus die untere Körperhälfte mit physiologischer Chlornatriumlösung durchspült. Dieses wesentlich einfachere Verfahren hat mich nicht zum Ziele geführt, insofern es mir auf diesem Wege nicht gelang, die unteren Extremitäten vollständig vom Blute zu befreien.

2. Kühne legte grossen Werth darauf, dass die Plasmabereitung bei niedriger Temperatur durchgeführt werde. Wie allgemein bekannt, setzte er die Muskeln entbluteter Frösche einer Temperatur von -5 bis -7° aus; die gefrorene Masse wurde in der Kälte zerkleinert und ausgepresst; unter Beobachtung einer Reihe von Cautelen gelang es Kühne, ein Plasma zu erhalten, dessen Temperatur nicht über 0° angestiegen war. — Halliburton arbeitete ebenfalls unter Kälteanwendung. Die Ausspülung des Blutes ward mit kalter Chlornatriumlösung vorgenommen; die Muskelstücke wurden in einer Kältemischung zum Gefrieren gebracht, in der Kälte zerkleinert und ausgepresst. — Nach einer Anzahl orientirender Versuche sah ich mich veranlasst, auf die Anwendung der Kälte ganz zu verzichten und von dieser erheblichen Complication der Versuchsanordnung abzustehen, da sich das mit dem Kälteverfahren bereitete Plasma nicht anders verhielt, als das ohne Kälteanwendung hergestellte.

3. Wahl des Extractionsmittels. Danilewsky hatte zur Extraction 12—15 Proc. Chlorammoniumlösung empfohlen; auch Kühne, Chittenden und Wyckoff-Cummins, Whitfield u. A. bedienten sich dieses Extractionsmittels. Halliburton dagegen arbeitete mit Lösungen von Chlornatrium von 10 Proc., Magnesiumsulfat von 5 Proc. und halbgesättigter Lösung von schwefelsaurem Natron. Ich habe auf jenes Lösungsmittel zurückgegriffen, dessen sich Kühne in der ersten seiner grundlegenden Arbeiten auf diesem Gebiete bediente, die physiologische Chlornatriumlösung. Ich werde Gelegenheit haben, nachzuweisen, dass jene concentrirteren Salzlösungen, insbesondere aber das Chlorammonium, den Eiweisskörpern des Muskels gegenüber durchaus nicht die Rolle indifferenten Extractionsmittel spielen; während dagegen die physiologische Chlornatriumlösung die Vortheile physiologischer und chemischer Indifferenz mit einem ausreichenden Extractionsvermögen in Bezug auf die hier in Betracht kommenden Körper vereinigt. Dies ergibt sich aus der Thatsache, dass ein mit 0,6 proc. Chlornatriumlösung zweimal extrahirter Muskel an Ammoniumchlorid nur noch Spuren Eiweiss abgibt.

Das beschriebene Verfahren der Plasmabereitung ist, bei gehöriger Vorbereitung und wenn man sich mit der Gewinnung kleiner Quantitäten begnügt, in relativ kurzer Zeit durchführbar. Es ist wiederholt gelungen, die ganze Manipulation innerhalb 25—30 Minuten nach dem Tode des Thieres zu vollenden, trotzdem ich gerade bei diesen Versuchen unter Kälteanwendung arbeitete, das Blut mit gekühlter Chlornatriumlösung ausspülte, die Muskeln in der Kälte (mit Hilfe von Kältemischungen) zerkleinerte und auspresste.

Das Verfahren giebt bei Versuchen an grossen, ausgewachsenen Kaninchen ein von Blut ganz freies Plasma. Dasselbe ist von gelblich-rother Farbe, dünnflüssig, von neutraler, schwach alkalischer oder schwach saurer Reaction. Die ersten Portionen, die aus dem Muskelbrei ausgepresst werden, sind immer opalescent. Die Trübung lässt sich durch Filtration in keiner Weise beseitigen. Lässt man aber die gepressten Muskeln einige Zeit lang in der Presse, so gelingt es fast immer, durch weiteres Anziehen zum Schlusse eine Portion wasserhellen Plasmas zu gewinnen.

Bei Hunden gelingt es ebenfalls, allerdings erst nach Anwendung sehr grosser Mengen Chlornatriumlösung, das Blut aus den Muskeln auszuwaschen. Das erhaltene Muskelplasma ist aber dunkel, bräunlich gefärbt, entsprechend der viel intensiveren Eigenfärbung des Hundemuskels.

Die Untersuchung wurde auch auf die Muskeln von Fischen ausgedehnt. Auch hier gelingt die Bereitung blutfreien Muskelplasmas ohne besondere Schwierigkeiten. Der Vorgang ist folgender: Der Fisch wird decapitirt, sodann die Aorta descendens auf der Schnittfläche in der Nachbarschaft der Wirbelsäule aufgesucht und mit einer Canüle armirt. Durch dieselbe wird aus einer Bürette physiologische Chlornatriumlösung eingegossen. Die Flüssigkeit kommt an der Schnittfläche der querdurchtrennten Rückenmuskulatur, sowie in dem eröffneten Cavum peritonei zum Vorschein. Aus einem durch die Leber geführten Schnitte sickern dichtgedrängt Tropfen heraus. Die abfliessende Flüssigkeit erweist sich nach einiger Zeit als nahezu farblos.

II. Das Paramyosinogen (Halliburton).

Die Bezeichnung rührt von Halliburton her, welcher der Meinung war, dieser Körper sei neben dem Myosinogen die Muttersubstanz des Muskelgerinnsels, des Myosins.

Zur Darstellung dieses Körpers bediente er sich der Methode der fractionirten Fällung mit Natriumchlorid oder Magnesiumsulfat. Von seinem, mit 10 proc. Natriumchlorid-, 5 proc. Magnesiumsulfat- oder halbgesättigter Natriumsulfatlösung bereiteten Muskelplasma ausgehend, versetzte er:

je 100 ccm mit 50 g krystall. Magnesiumsulfat oder
 = 100 = = 26 g = Natriumchlorid.

Auf diese Weise erhielt er einen Niederschlag von Paramyosinogen. Er charakterisirt das Paramyosinogen folgendermaassen: Seine Lösung coagulirt bei 47°. Durch Diffusion erfolgt Fällung; der Niederschlag ist unlöslich in 10 proc. Kochsalzlösung. Essigsäure bewirkt keinen Niederschlag (Gegensatz zum Myosinogen); ebensowenig Myosinferment (s. u.). Der durch Natriumchlorid oder Magnesiumsulfat bewirkte Niederschlag wird bei längerem Waschen mit gesättigten Solutionen dieser Salze unlöslich.

Darstellung.

Ich bediente mich zur Darstellung des Paramyosinogens zweier Methoden: der Dialyse und der fractionirten Fällung mit Ammonsulfat. Das als Ausgangsmaterial dienende Muskelplasma darf kein lösliches Myogenfibrin enthalten (siehe unten), d. h. es darf auf 40° erhitzt keinen Niederschlag geben. Ist lösliches Myogenfibrin vorhanden, so muss dasselbe durch Erhitzen des Plasmas auf 40° entfernt werden.

A) Dialyse. Plasma wird in Pergamentschläuchen 12 bis 24 Stunden gegen fliessendes Wasser und ebenso lange gegen destillirtes Wasser diffundiren gelassen. Am Boden der Schläuche setzt sich ein reichlicher Niederschlag ab; derselbe wird abfiltrirt, so lange mit destillirtem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser eiweissfrei ist; sodann in der Lösung irgend eines Neutralsalzes, zumeist einer 10—15 proc. Ammoniumchloridlösung aufgeschwemmt. Nur ein Theil des Niederschlages geht in Lösung; dieselbe enthält ausser Paramyosinogen keinen anderen Eiweisskörper.

B) Fractionirte Fällung mit Ammonsulfat. Plasma wird abgemessen und mit einer solchen Menge einer gesättigten Ammonsulfatlösung versetzt, dass auf je 2 ccm Plasma 1,5 ccm der Salzsolution entfallen. Man erhält so ein Gemenge, dessen Procentgehalt an Ammonsulfat 23 Proc. beträgt. Es entsteht ein flockiger Niederschlag, der sich klar absetzt; er wird abfiltrirt und mit Ammonsulfatlösung von 23 Proc. ausgewaschen, sodann zwischen Filtrirpapier scharf abgepresst und in physiologischer Chlornatriumlösung aufgeschwemmt. Ein nicht unbedeutender Theil des Niederschlages bleibt ungelöst. Die filtrirte Lösung ist opalescent. Dieselbe wird abermals mit Ammonsulfat auf 23 Proc. versetzt und der frühere Vorgang wiederholt; um sicher zu sein, dass der Niederschlag nicht noch Reste anderer Eiweisskörper enthalte, wird eventuell die Salzfällung noch einmal vorgenommen. Die Ausbeute ist stets eine relativ geringe, im Verhältniss zur Reichlichkeit des ersten Nieder-

schlages, da bei jeder Fällung ein Theil des Niederschlages unlöslich wird. Es empfiehlt sich, die ganze Manipulation möglichst schnell durchzuführen und namentlich die abfiltrirten Niederschläge alsbald wieder in Lösung zu bringen. Es geschah mir wiederholt, dass nahezu der ganze, über Nacht auf dem Filter verbliebene Niederschlag unlöslich ward, trotzdem ich die Vorsicht gebrauchte, die Manipulationen durchwegs bei niedriger Temperatur vorzunehmen.

Eigenschaften.

1. Eine klare Paramyosinogenlösung trübt sich spontan bei längerem Stehen und setzt einen flockigen Niederschlag ab. Je höher die Temperatur, desto schneller geht die Bildung des Niederschlages vor sich. Bei 32—35° beginnt dieselbe meist nach 2—3 Stunden. Der Niederschlag ist unlöslich in Neutralsalzen und Calciumchlorid, schwer löslich in Ammoniak, Natronlauge und starker Essigsäure. Derselbe zeigt die Eigenschaften coagulirter Eiweisskörper. Die Umwandlung kann eine vollständige sein. Ich sah, dass eine Paramyosinogenlösung, die 24 Stunden lang bei 32—35° erhalten wurde, alles Eiweiss bis auf einen ganz geringen Rest abschied.

Halten wir diese Erscheinung zusammen mit der Beobachtung, dass auch ein Niederschlag von Paramyosinogen, sei es durch Salzfällung oder durch Dialyse entstanden, sich allmählich in coagulirtes Eiweiss umwandelt, so ergibt sich daraus der Schluss, dass das Paramyosinogen in hohem Grade die Tendenz habe, sich schon bei gewöhnlicher Temperatur in eine fibrinähnliche Modification umzuwandeln. Ich will dieselbe fortan, aus später zu erörternden Gründen, Myosinfibrin nennen.

2. Aus dem über die Darstellungsmethoden Gesagten geht hervor, dass das Paramyosinogen durch Diffusion fällbar ist. Halliburton, der diese Eigenschaft festgestellt hat, bemerkt, der Diffusionsniederschlag sei in Natriumchloridlösung von 10 Proc. unlöslich. Ich konnte mich im Gegensatze zu dieser Beobachtung davon überzeugen, dass ein Theil des Diffusionsniederschlages in Neutralsalzen löslich bleibt, während ein anderer Theil desselben allerdings die Eigenschaften des coagulirten Eiweisses zeigt. Diese Erscheinung erklärt sich aus der eben besprochenen Neigung des Paramyosinogens, sich in Myosinfibrin umzuwandeln.

3. Eine Paramyosinogenlösung trübt sich bei schnellem Erhitzen zwischen 44—47° und giebt zwischen 47—50° einen Niederschlag, der zuerst feinflockig, später grobflockig ist und sich gut absetzt. Wird die Lösung einige Minuten lang bei 50° erhalten, so

ist die Fällung eine vollständige. Bei kurzdauerndem Erhitzen kann eine geringe Menge des Körpers der Fällung bei 50° entgehen. Dieser Eiweissrest scheidet sich zwischen 50—53° ab.

Ist die Paramyosinogenlösung noch mit anderen Eiweisskörpern verunreinigt, so giebt sie, nach Entfernung des bei 50° entstandenen Niederschlags, bei weiterem Erhitzen noch einen spärlichen Niederschlag, und zwar meist erst zwischen 60—70°, welche Fällungstemperatur stark verdünnten Myosinogenlösungen entspricht.

4. Verhalten zu Neutralsalzen. Ammonsulfat fällt Paramyosinogen bei genügendem Zusatze völlig. Die Fällungsgrenzen dieses Salzes wurden durch zahlreiche Serienversuche nach der von Kauder¹⁾ geübten Methode festgestellt. Die Fällung beginnt je nach der Concentration bei einem Salzgehalte von 12 bis höchstens 17 Proc. Dieselbe ist bei 24 Proc. bis auf sehr geringe Reste, bei 28 Proc. vollständig beendet.

Auch durch Natriumchlorid und Magnesiumsulfat wird das Paramyosinogen abgeschieden. Nach Halliburton bedarf es zum Beginn der Fällung

auf 100 ccm seines Salzplasma 15 g Natriumchlorid oder 30 g Magnesiumsulfat,
zur vollständigen Fällung

auf 100 ccm Plasma 26 g Natriumchlorid oder 50 g Magnesiumsulfat.

Die durch Neutralsalze in einer Paramyosinogenlösung bewirkten Niederschläge büssen, bei längerem Stehen, ihre Löslichkeit in Salzsolutionen ein.

5. Verhalten zu Säuren. Sowohl Essigsäure, als auch Mineralsäuren geben in einer Paramyosinogenlösung einen weissen flockigen Niederschlag. In sehr verdünnten Lösungen entsteht nur eine Trübung, welche sich, bei längerem Stehen, zu einem Niederschlage ballen kann. Der Niederschlag ist im Säureüberschusse unschwer löslich, ebenso in starken Alkalien, unlöslich in Neutralsalzen.

Halliburton giebt an, das Paramyosinogen sei durch Essigsäure nicht fällbar und betont diese Eigenschaft als Hauptmerkmal zur Unterscheidung desselben vom Myosinogen. Zur Erklärung dieses Widerspruches möchte ich erwähnen, dass man zu stark verdünnten Paramyosinogenlösungen Essigsäure nur sehr vorsichtig hinzufügen darf, um einen Niederschlag zu erzielen, sonst löst sich derselbe sofort im Ueberschusse der Säure. Es entspricht dieses Verhalten der Globulinatur des Paramyosinogens.

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XX. S. 411.

6. Verhalten zu Kohlendioxyd. Kohlendioxyd, in eine Paramyosinogenlösung eingeleitet, erzeugt nach einiger Zeit einen flockigen Niederschlag, der in Neutralsalzen unlöslich, in Natronlauge und Ammoniak leicht löslich ist.

7) Mit Natronlauge erwärmt, giebt Paramyosinogen eine klare Flüssigkeit von der gewöhnlichen Albuminatbeschaffenheit; der Zusatz von Ammoniumchlorid bewirkt, im Gegensatze zum Myosinogen, keine Fällung.

8. Paramyosinogenlösung, mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol von 95 Proc. versetzt, giebt einen flockigen Niederschlag, der, unmittelbar nach der Fällung grösstentheils wieder auf Zusatz von Wasser in Lösung geht. Nach einiger Zeit aber hat der Niederschlag seine Löslichkeit eingebüsst, ein Verhalten, das wir zur Trennung des Paramyosinogens vom Myosinogen verwerthen können.

9. Aether bewirkt Fällung, Chloroform die Bildung fädig-membranöser Gerinnsel.

III. Das Myosinogen (Halliburton).

Zur Darstellung dieses Körpers bediente sich Halliburton der fractionierten Fällung mit Magnesiumsulfat: Je 100 ccm Plasma werden mit 50 g krystallisierten Magnesiumsulfats versetzt; es entsteht ein Niederschlag von Paramyosinogen; derselbe wird abfiltriert und das Filtrat mit soviel Magnesiumsulfat versetzt, dass auf je 100 ccm Flüssigkeit 94 g des Salzes kommen. Es entsteht ein Niederschlag von Myosinogen, der durch 3—4maliges Waschen mit saturierter Magnesiumsulfatlösung gereinigt wird.

Bezüglich der Eigenschaften des Myosinogens führt Halliburton folgendes an: das Myosinogen gehört zu den Globulinen, die Lösung coaguliert bei 56°. Wird dieselbe jedoch mit Wasser verdünnt oder mit Myosinferment 1) versetzt, so erfolgt Coagulation, am schnellsten bei 35 bis 40°; so giebt eine Lösung

mit Wasser verdünnt: geringe Gerinnung nach 24 Stunden bei 35°,

= Myosinferment: = = 2 = = 350

Da das Paramyosinogen aus seinen Lösungen durch Myosinferment nicht gefällt wird, schliesst Halliburton, das Paramyosinogen sei der unwesentliche, das Myosinogen der wesentliche Bestandtheil des Muskelgerinnsels.

Eine Myosinogenlösung ist durch Magnesiumsulfat und Natriumchlorid vollständig fällbar, und zwar wird sie

zum Theil gefällt durch Magnesiumsulfat 60 Proc. oder Natriumchlorid 30 Proc.

1) Das Myosinferment wurde von Halliburton, analog dem Schmidt'schen Verfahren zur Darstellung des Fibrinfermentes, derart bereitet, dass Muskeln Monate lang unter Alkohol aufbewahrt, dann über Schwefelsäure getrocknet und mit Wasser extrahiert wurden.

vollständig gefällt durch Magnesiumsulfat 94 Proc. oder Natriumchlorid 36 Proc.

Eine Myosinogenlösung wird durch Säuren, z. B. Essigsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure, Oxalsäure gefällt; der Niederschlag ist im Ueberschuss der Säure löslich.

Darstellungsmethoden.

Zur Reindarstellung des Myosinogens gelangte ich nach verschiedenen Methoden. Hat man die Muskeldurchspülung mit Chlornatriumlösung lange genug fortgesetzt, so erhält man oft albuminfreies Plasma, das man daran erkennt, dass es kein jenseits 70° coagulirendes Eiweiss enthält. Solches albuminfreies Muskelplasma diente mir im Allgemeinen als Ausgangsmaterial zur Reindarstellung des Myosinogens.

1. Darstellung durch Dialyse. Es wird frisch bereitetes Muskelplasma in käuflichen Dialysirschläuchen 12—24 Stunden lang gegen fließendes Wasser, sodann ebenso lang gegen destillirtes Wasser dialysirt. Ein Rest des Paramyosinogens entgeht der Fällung (wahrscheinlich wird in der salzfreien Flüssigkeit dieses Globulin durch das Myosinogen in Lösung gehalten). Zur Beseitigung desselben wird die Flüssigkeit kurze Zeit auf 52° erhitzt. Es entsteht ein nicht unansehnliches Coagulum, welches abfiltrirt wird. Das wasserhelle, goldgelbe Filtrat ist reine salzfreie Myosinogenlösung.

2. Darstellung durch Coagulation in der Wärme. Wenn man auf die Befreiung des Myosinogens von Extractivstoffen und Salzen verzichtet, kann man, von albuminfreiem Plasma ausgehend, in sehr einfacher Weise durch Erhitzen desselben auf 52° und Abfiltriren des entstandenen Niederschlages eine Lösung erhalten, welche ausser Myosinogen keinen anderen Eiweisskörper enthält.

3. Darstellung durch Ammonsulfatfällung. Da die Fällungsgrenzen des Myosinogens wesentlich höher liegen, als jene des Paramyosinogens und des löslichen Myogenfibrins (s. u.), — die Fällung beginnt erst bei einem Salzgehalt von 26 Proc. — so fällt man zunächst das albuminfreie Muskelplasma mit $1\frac{1}{4}$ seines Volums gesättigter Ammonsulfatlösung, entsprechend einem Salzgehalte von 29,1 Proc. Es entsteht ein reichlicher Niederschlag, der sich nach einiger Zeit absetzt. Die darüber stehende klare gelbe Flüssigkeit hebert man nach dem Absetzen ab und sättigt sie durch in Substanz eingetragenes pulverisirtes Ammonsulfat. Der reichliche Niederschlag wird abfiltrirt, mit saturirter Ammonsulfatlösung gut ausgewaschen, zwischen Filtrirpapier scharf abgepresst, endlich in Wasser wieder gelöst. Die Lösung erfolgt leicht und in der Regel vollständig, die

klare goldgelbe Lösung enthält neben dem Myosinogen einen bei niedrigerer Temperatur coagulirenden Eiweisskörper (lösliches Myogenfibrin), von dem sie durch Erhitzen auf 40° befreit wird.

Auch aus einem Muskelplasma, welches Albumin enthält, gelingt es, das Myosinogen zu isoliren.

4. Darstellung durch combinirte Natriumchlorid-(Magnesiumsulfat)-fällung und Coagulation in der Wärme. Muskelplasma wird mit feingepulvertem Natriumchlorid oder Magnesiumsulfat unter Umrühren gesättigt; der Niederschlag, bestehend aus Paramyosinogen, löslichem Myogenfibrin und einem Theile des Myosinogens, wird abfiltrirt, das Albumin bleibt im Filtrate. Der Niederschlag wird mit einer saturirten Lösung desselben Salzes gut ausgewaschen, abgepresst und wieder in Wasser gelöst. Ein Theil des Niederschlages bleibt ungelöst. Die Lösung des Niederschlages enthält ein Gemenge von Myosinogen, Paramyosinogen und löslichem Myogenfibrin. Durch Erhitzen auf 52° und Abfiltriren des entstandenen Coagulums wird das Myosinogen isolirt. Diese Methode gewährt eine viel geringere Ausbeute als die Verfahren 1., 2. u. 3., da die Fällung des Myosinogens durch Natriumchlorid oder Magnesiumsulfat eine sehr unvollständige ist.

Zum Schlusse sei noch ein Verfahren erwähnt, welches die Möglichkeit gewährt, aus einem beliebigen Plasma Myosinogen rein zu gewinnen.

5. Darstellung durch Alkoholfällung. Plasma wird mit dem 3fachen Volumen 92 proc. Alkohols versetzt. Es entsteht ein reichlicher, grobflockiger Niederschlag, der sich am Boden absetzt. Derselbe wird nach 12—24 Stunden abfiltrirt und auf dem Filter mit 92 proc. Alkohol gut ausgewaschen; sodann vom Filter genommen und mit Wasser verrieben. Das Albumin und das Paramyosinogen haben beim langen Verweilen unter Alkohol ihre Löslichkeit in Wasser ganz eingebüsst. Auch ein Theil des Myosinogens ist unlöslich geworden. Ein Theil desselben ist aber der Coagulation entgangen und wird von Wasser wieder aufgenommen. Auch hier muss man die Myosinogenlösung noch über 40° erhitzen, um das lösliche Myogenfibrin, das sich in der Lösung jedes Myosinogenniederschlages findet, zu beseitigen.

Eigenschaften.

1. Die Lösung des Myosinogens ist ganz klar, von goldgelber Farbe, neutral. Sie giebt die allgemeinen Farben- und Fällungsreactionen der Eiweisskörper.

2. Beim Stehen geht das gelöste Myosinogen in einen Eiweisskörper von ganz anderen Eigenschaften über, welcher durch verschiedene Einflüsse schon bei Zimmertemperatur, sicher und vollständig aber durch Erhitzen auf 40° zur Abscheidung gebracht werden kann. Auf diesen Körper, das lösliche Myogenfibrin, soll weiter unten näher eingegangen werden.

3. Die eigentliche Coagulationstemperatur des Myosinogens bei schnellem Erhitzen liegt zwischen 55—65°.

Eine reine, salzfreie, mässig concentrirte Myosinogenlösung zeigt bei schnellem Erhitzen folgendes Verhalten: Etwa bei 50° beginnt sie sich zu trüben; bei 52—56° zeigt sie einen Niederschlag.

Was die Beschaffenheit des Hitzecoagulums betrifft, so sei bemerkt, dass in concentrirten Lösungen ein compacter elastischer Kuchen entsteht, der die ganze Flüssigkeit erstarren macht. Zu einer so mächtigen Ausscheidung kommt es jedoch nicht unter 55°. Erst bei dieser Temperatur fällt das Eiweiss massenhaft aus, während zwischen 52—55° nur ein flockiger Niederschlag entsteht. Halliburton betont die klebrige Beschaffenheit des Myosinogenniederschlags, im Gegensatz zu der flockigen Paramyosinogenfällung; ich konnte diesen Gegensatz nicht constatiren.

Salzlösungen können, wenn wir von dem später zu beschreibenden Einflusse auf die Bildung von Myogenfibrin absehen, den Coagulationspunkt nur um einige Grade herabdrücken.

Welches ist die obere Grenze für die Hitzefällung des Myosinogens? Zur exacten Beantwortung dieser Frage schlug ich folgenden Weg ein:

Eine grössere Anzahl von Eprovetten wurde mit je 5 ccm einer reinen, salzfreien Myosinogenlösung beschickt. Sämmtliche Proben wurden gleichzeitig in einem grossen Wasserbade gleichmässig erwärmt. Sobald eine gewünschte Temperaturstufe erreicht war, wurde die Temperatur einige Minuten lang auf derselben gehalten. Sodann ward eine von den Proben aus dem Wasserbade entfernt, während die übrigen in demselben verblieben und auf die nächst höhere Stufe erhitzt wurden. Nach kurzem Verweilen bei dieser Temperatur ward abermals eine Eprovette entfernt, u. s. w. — Nun wurde das in der Probe entstandene Coagulum abfiltrirt und das Filtrat gekocht. Aus der Reichlichkeit des entstandenen Niederschlags konnte ich mir ein Urtheil darüber bilden, wie weit die Fällung bei der jeweiligen Temperaturstufe fortgeschritten war und die obere Grenze der Hitzefällung in genauer Weise feststellen.

Ich habe, um die beim Versuche mitspielenden Zufälligkeiten zu vermeiden, eine grössere Anzahl ähnlicher Serienversuche angestellt. Dabei wurde die Concentration der Myosinogenlösungen entsprechend variirt, sowie der Einfluss des Zusatzes von Neutralsalzen beachtet.

Das Ergebniss dieser Versuche war ganz constant Folgendes: Gleichviel, ob die Fällung oberhalb oder unterhalb 55° beginnt, coagulirt die Hauptmasse des Myosinogens zwischen 55—60°. Ein immerhin nicht unbedeutender Rest fällt zwischen 60—65° aus. Bei 65° entgeht nur eine minimale Eiweissmenge der Fällung. Dieselbe gelangt erst zwischen 65 bis 70° zur Abscheidung.

Ausnahmsweise habe ich in einem Falle bemerkt, dass die Fällung bei 58° eine vollständige war.

Der Grund des weiten Spatiums, innerhalb dessen die Fällung durch Wärmecoagulation vor sich geht, liegt in der durch die Coagulation bedingten Abnahme der Eiweissconcentration. Ich hatte wiederholt Gelegenheit zu bemerken, dass der Coagulationspunkt einer Myosinogenlösung, nach Maassgabe ihrer relativen Verarmung an Eiweiss, bis gegen 65° hinaufrücken kann.

Es drängt sich die Frage auf, ob es denn möglich sei, bei lange anhaltendem Erhitzen auf der unteren Grenze, also in der Nähe von 55°, das Myosinogen vollständig aus seinen Lösungen zu fällen.

Ein Beispiel möge hier Platz finden.

Eine Myosinogenlösung wird in einem grossen Wasserbade auf 56° erhitzt und diese Temperatur mit Hilfe eines Thermoregulators constant erhalten. Nach 24 Stunden wird das entstandene Coagulum abfiltrirt. Die Untersuchung einer Probe des Filtrates ergibt, dass dasselbe noch immer bedeutende Mengen Myosinogen enthält. Der Coagulationspunkt ist auf 60° hinaufgerückt, was wir, dem oben Gesagten zufolge, auf die relative Eiweissverarmung der Lösung beziehen dürfen. Das Filtrat wird also bei 56° weiter erhitzt. Dasselbe bleibt 1—2 Stunden lang klar; dann trübt es sich wieder, und es bildet sich abermals ein Niederschlag, der sich netzartig am Boden des Gefässes absetzt. Nach 48 Stunden wird derselbe abfiltrirt. Das Filtrat erweist sich nunmehr als eiweissfrei. Ich vermute, dass die schliessliche Fällung der Myosinogenreste durch die Zunahme der Concentration der Lösung unterstützt wird.

Ich habe eine Anzahl ähnlicher Versuche ausgeführt und mich von der Regelmässigkeit dieses Verhaltens überzeugt. Es ist daraus zu sehen, dass man es hier mit einem einheitlichen Körper und nicht etwa mit 2 Individuen, wie es Halliburton annahm (Myosinogen und Myoglobulin), zu thun hat.

Es bedarf wohl kaum der Erwähnung, dass man die zur complete Fällung erforderliche Zeit entsprechend abkürzen kann, wenn man die Temperatur, statt auf 55°, auf einer höheren Stufe constant erhält; doch ist z. B. die Fällung nach 3 stündigem Erhitzen auf 63° noch nicht vollendet.

Ich habe in einem Falle quantitativ festgestellt, wie viel Procent des in einer Lösung enthaltenen Myosinogens bei 24 stündigem Erhitzen auf 52—56° zur Ausfällung gelangen. 2 Parallelproben ergaben die Werthe von 80.15 Proc. und 81.84 Proc.

4. Verhalten bei der Diffusion. Das Myosinogen ist durch Diffusion nicht fällbar. Es steht dies mit der Meinung Halliburton's, das Myosinogen gehöre zu den Globulinen, im Widerspruche.

Es könnte vielleicht der Einwand erhoben werden, dass nach vollendeter Diffusion in Lösung gebliebene Myosinogen sei nichts weiter, als ein der Fällung entgangener Rest derselben. Dem entgegen möchte ich Folgendes erwähnen. Bei Fällung irgend eines Globulins durch Diffusion geschieht es allerdings nicht selten, dass ein geringer Rest desselben in Lösung bleibt und durch noch so lange fortgesetzte Diffusion nicht ganz zur Ausfällung gebracht werden kann. Beim Myosinogen ist aber die Menge des spontan ausfallenden Eiweisskörpers stets ausserordentlich viel geringer, als die des gelöst bleibenden Antheils.

Um mich sicher zu stellen, dass die Diffusionsfällung eine vollständige ist, pflegte ich so vorzugehen, dass ich das vom Niederschlag getrennte Filtrat mit Silbernitrat prüfte und die Diffusion so lange fortsetzte, bis dasselbe mit Silbernitrat keinen Niederschlag mehr gab.

Dieser Vorgang wird durch die Eigenschaft des Myosinogens ermöglicht, mit Schwermetallsalzen keine Fällung zu geben (s. u.). Ich konnte mir also leicht die Ueberzeugung verschaffen, dass die Dialyse ad maximum durchgeführt worden war, da der negative Ausfall der Silbernitratreaction die Gewähr dafür bot, dass die Eiweisslösung keine diffusiblen Salze mehr enthielt.

Wird die von diffusiblen Salzen und Diffusionsniederschlag befreite Myosinogenlösung noch weiter im Diffusionsschlauche belassen, so wird sie sich allerdings im Laufe von Tagen wieder trüben und wird abermals einen Niederschlag abscheiden; und schliesslich wird es in einem oder dem anderen Falle gelingen, ein Diffusionsfiltrat zu erhalten, welches nur mehr eine minimale Eiweissmenge enthält. Dieses Verhalten erklärt sich aus der bereits hervorgehobenen Eigenschaft des Myosinogens, sich beim Stehen allmählich in unlösliches Eiweiss zu verwandeln, eine Umwandlung, die natürlich auch im Diffusionsschlauche erfolgt.

5. Verhalten zu Neutralsalzen. A) Ammonsulfat fällt das Myosinogen vollständig aus seinen Lösungen. Die Fällung beginnt im Wesentlichen erst bei einer Salzconcentration von 26 bis 27 Proc. Hierin liegt ein auffallender Unterschied dem Serum- und Eieglobulin gegenüber. Wir wissen aus den Arbeiten von Kauder¹⁾ und Pohl¹⁾, dass diese Globuline bei halber Sättigung, i. e. bei 26 Proc. Gehalt an Ammonsulfat, bereits völlig ausfallen.

Zur Feststellung der Fällungsgrenzen wurden Serienversuche, sowohl mit reiner, salzfreier Myosinogenlösung, als auch mit nativem Muskelplasma durchgeführt.

Der Beginn der Fällung wurde in der Reihe der mit steigenden Mengen saturirter Ammonsulfatlösung versetzten Proben dort angenommen, wo sich nach halbstündigem Stehen ein Niederschlag gebildet hatte.

Auch findet sich bei Betrachtung aller mit nativem Muskelplasma angestellter Serienversuche eine höchst augenfällige Stufe bei oder wenig oberhalb 26 Proc. mit solcher Regelmässigkeit, dass wir gar nicht daran zweifeln können, dass die Myosinogenfällung, ihrer Hauptmasse nach, gewiss erst jenseits der genannten Salzconcentration stattfindet.

Die Feststellung der unteren Fällungsgrenze stiess insofern auf Schwierigkeiten, als nur ganz ausnahmsweise alle jene Proben, welche weniger Ammonsulfat als 26 Proc. enthielten, klar waren und klar blieben. Fast jedesmal zeigten die Proben zwischen 17—26 Proc. Salzgehalt nach $\frac{1}{2}$ Stunde zwar keinen Niederschlag, wohl aber eine Trübung, die sich nach einigen Stunden zu einem sehr zarten Niederschlage umwandelte.

Für dieses Verhalten boten sich zweierlei Erklärungen: Entweder beginnt die Myosinogenfällung *de facto* schon bei 17 Proc. Salzgehalt; oder aber gehört jene Trübung, beziehungsweise jener Niederschlag gar nicht dem Myosinogen als solchem an, sondern vielmehr einer Verunreinigung mit Paramyosinogen.

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XX.

Folgender Versuch veranlasste mich, letzterer Erklärung den Vorzug zu geben:

Von nativem Plasma wurde eine Portion auf ihr Verhalten zu Ammonsulfat untersucht. Es ergab sich, dem Gehalte an Paramyosinogen entsprechend, 12 Proc. als untere Fällungsgrenze. Nun wurde eine andere Portion des Plasmas $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 50° erhitzt, das entstandene Coagulum abfiltrirt und das Filtrat in der gleichen Weise untersucht. Diesmal fand sich 26 Proc. als Grenzwert.

Die obere Fällungsgrenze findet sich bei etwa 40 Proc.; doch können da noch ansehnliche Myosinogenmengen der Fällung entgehen.

Was im Uebrigen das Verhalten des Ammonsulfatniederschlags betrifft, hat derselbe beim Stehen eine, im Vergleiche mit dem analogen Paramyosinogenniederschlag, sehr geringe Tendenz in die coagulirte Form überzugehen, i. e. sich in Myogenfibrin zu verwandeln. Ich habe wiederholt eine Myosinogenlösung 3—4 mal hinter einander mit Ammonsulfat gefällt, ohne dass ein wesentlicher Theil der Substanz unlöslich geworden wäre, während man bei analoger Behandlung einer Paramyosinogenlösung immer einen bedeutenden Theil des Materials dadurch einbüsst, dass der Paramyosinogenniederschlag in Myosinfibrin übergeht. Dagegen zeigt die Lösung des Myosinogenniederschlags regelmässig einen erheblichen Gehalt an löslichem Myogenfibrin.

Der Ammonsulfatniederschlag löst sich zu einer klaren goldgelben Flüssigkeit. Eine Beseitigung dieser Färbung durch fractionirte Fällung mit Ammonsulfat gelang nicht, während sich z. B. Myohämatin auf diese Art abscheiden lässt, da es erst bei einem viel höheren Salzgehalte als die Hauptmenge des Myosinogens ausfällt.

B) Natriumchlorid und Magnesiumsulfat. Myosinogenlösung wird bei Sättigung mit einem dieser Salze nur sehr unvollständig gefällt.

Ich befinde mich mit dieser Angabe im Widerspruche zu Halliburton, welcher gefunden hat, dass die Myosinogenfällung bei einem Gehalte von 94 Proc. Magnesiumsulfat oder 36 Proc. Natriumchlorid eine vollständige sei. Vielleicht ist der Gegensatz durch den Umstand begründet, dass sich Halliburton bei seinen Sättigungsversuchen einer Schüttelvorrichtung zu bedienen pflegte. Es ist möglich, dass sich bei diesem Vorgange eine mechanische Eiweissfällung mit der chemischen combinirte.

Wie betreffs des Ammonsulfatniederschlags muss auch hier hervorgehoben werden, dass die Lösung des Salzniederschlags immer, neben dem Myosinogen, den bereits erwähnten Eiweisskörper von geringerer Gerinnungstemperatur ($30-40^{\circ}$), das lösliche Myogenfibrin,

in nicht unbeträchtlicher Menge enthält, auch wenn die ursprüngliche Myosinogenlösung den richtigen Coagulationspunkt besessen hatte.

6. Reine, salzfreie Myosinogenlösung wird durch Essigsäure weder getrübt, noch gefällt; auf Zusatz einer sehr geringen Menge irgend einer Neutralsalzlösung entsteht augenblicklich ein flockiger Niederschlag. Es bedarf also der combinirten Wirkung von Salz und Säure, um Fällung zu bewirken.

Aus einer sehr verdünnten Lösung scheidet sich der Niederschlag erst nach einiger Zeit ab, bei einem noch höheren Grade der Verdünnung entsteht kein Niederschlag, sondern nur eine Trübung. Aus einer sehr concentrirten Lösung scheidet sich der Niederschlag so massenhaft ab, dass es zu einem Gestehen der ganzen Masse kommt.

Der Niederschlag ist im Ueberschusse der Säure leicht und vollständig löslich, unter Umwandlung in Acidalbumin (Syntonin). Bei Anwendung einer sehr concentrirten Säure erstarrt die Lösung nach einiger Zeit zu einer gelblichen, durchsichtigen, zitternden Gallerte. Besonders schnell tritt diese Umwandlung bei Anwendung von Eisessig auf.

Der Essigsäureniederschlag ist in Neutralsalzen nicht löslich. In schwachen Alkalien geht die Lösung nur schwer und langsam von Statten, leicht dagegen in starker Kali- oder Natronlauge.

Zur beiläufigen Feststellung der Concentration, bei der die Essigsäure die Fällung beginnt bez. vollendet, wurde folgendermaassen vorgegangen:

Eine Reihe von Eproutetten wurde mit je 2 ccm einer chlornatriumhaltigen Myosinogenlösung und sodann mit einem abgemessenen von Probe zu Probe ansteigendem, Quantum von 1 pro mille Essigsäure versetzt und nun beobachtet, wo die Fällung begann und wo der Niederschlag wieder in Lösung gegangen war. Sodann wurden die Niederschläge filtrirt und von jedem Filtrate die eine Hälfte mit Essigsäure, die andere vorsichtig mit verdünntem Natriumcarbonat versetzt. Auf diese Weise ersah man, wo die Fällung mit Essigsäure eine vollständige war und andererseits konnte auch der Punkt festgestellt werden, wo die Bildung von Acidalbumin begonnen hatte. Es ergab sich folgendes:

Die Säurefällung begann bei einer Concentration von 0,3 pro mille und war bereits bei 0,6 pro mille vollendet; schon bei 0,7 pro mille begann die Auflösung des Niederschlages unter Bildung von Acidalbumin und bei 0,95 pro mille war der ganze Niederschlag wieder in Lösung gegangen.

Diese Zahlen führen die längst bekannte Thatsache, dass sich das Muskeleiweiss durch die Leichtigkeit auszeichnet, mit der es in Acidalbumin umgewandelt werden kann, auf die entsprechende Eigenschaft des Myosinogens zurück.

Es gelang mir niemals, mit Essigsäure alles in Lösung befindliche Myosinogen auszufällen. Stets blieb ein Theil desselben in Lösung, auch wenn die Concentration und Menge der Säure so gewählt wurde, dass es nicht zur Bildung von Acidalbumin kam. Das klare Filtrat gab dann weder auf Zusatz von Essigsäure, noch auf Zusatz von Alkali einen weiteren

Niederschlag. Wurde nun dieses essigsaurer Filtrat mit einer weiteren Menge der Essigsäure versetzt, so kam es sogleich zur Bildung von Acidalbumin; der in Lösung gebliebene Rest zeigte somit das gleiche Verhalten, wie der ausgefällte Antheil.

7) Mineralsäuren geben in einer Myosinogenlösung eine im Ueberschusse der Säure lösliche Fällung. Die Umwandlung in Acidalbumin erfolgt durch Mineralsäuren noch leichter, als durch Essigsäure. Aus Serienversuchen ergab sich, dass ein Tropfen $\frac{1}{10}$ Normal-Salzsäure zu 10 ccm einer Myosinogenlösung hinzugefügt, ohne einen Niederschlag zu erzeugen, dieselbe derart verändert, dass beim Neutralisiren eine Fällung erfolgt.

8. In eine salzfreie Myosinogenlösung kann viele Stunden lang Kohlendioxyd eingeleitet werden, ohne Fällung zu bewirken. Eine salzhaltige Myosinogenlösung wird dagegen durch Kohlendioxyd gefällt. Wird eine salzfreie Myosinogenlösung mit Kohlendioxyd gesättigt und dann mit einer geringen Menge irgend einer Neutralsalzlösung versetzt, so entsteht augenblicklich ein reichlicher Niederschlag.

Eine vollständige Fällung konnte ich selbst nach 24stündigem Einleiten von Kohlendioxyd nicht erzielen.

Bemerkenswerth ist die Schnelligkeit, mit der sich der Kohlendioxydniederschlag, namentlich in nicht sehr salzreichen Lösungen bildet. Man sieht zuweilen schon nach 1 Minute eine reichliche Fällung auftreten, die sich bald absetzt. Dieses Verhalten ist insofern bemerkenswerth, als bekanntlich andere, durch Kohlendioxyd fällbare Eiweisskörper, die Globuline, in der Regel erst nach längerem Einleiten des Gases, oft erst nach Stunden, einen Niederschlag geben.

Der Niederschlag zeichnet sich durch seine wenig compacte Beschaffenheit dem consistenten Essigsäureniederschlag gegenüber aus.

9. Wird eine Myosinogenlösung mit Natronlauge versetzt und vorsichtig erwärmt, so bleibt dieselbe klar. Die Lösung zeigt das gewöhnliche Verhalten von Albuminat. Doch ist Folgendes zu bemerken: Wird eine solche Flüssigkeit mit Ammoniumchloridlösung versetzt, so entsteht ein voluminöser, klumpiger, gelatinöser Niederschlag, der sich im Ueberschusse von Natronlauge wieder löst.

10. Myosinogen wird durch Alkohol gefällt. Dazu bedarf es nur einer geringen Concentration. Der Zusatz von 10 Proc. Alkohol genügt, um eine Myosinogenlösung zu trüben. Der Niederschlag kann beim Stehen unter Alkohol sehr lange seine Löslichkeit in Wasser behalten.

Bei einem Versuche, Myosinferment nach Halliburton's Methode darzustellen, hatten Kaninchenmuskeln 3 Monate lang unter Alkohol gelegen, der wiederholt gewechselt worden war. Als die Muskeln getrocknet

und mit Wasser extrahirt wurden, fand sich in wässriger Lösung eine bedeutende Menge Myosinogen. Es wurde bereits gelegentlich der Darstellung des Myosinogens erwähnt, dass letztere Eigenschaft zur Isolirung des Myosinogens aus einem Gemenge von Eiweisskörpern verwerthet werden kann.

Durch Methylalkohol und Aether wird Myosinogen gleichfalls gefällt.

11. Das Myosinogen zeigt den Salzen der Schwermetalle gegenüber folgendes auffallende Verhalten: Während dieselben in einer neutralsalzhaltigen Myosinogenlösung augenblicklich eine sehr voluminöse Fällung bewirken, wird eine salzfreie Myosinogenlösung durch dieselben nicht gefällt, höchstens getrübt.

So gab, z. B. eine salzfreie reine Myosinogenlösung mit

Silbernitrat: Keine Trübung. Auf Zusatz einiger Tropfen Natriumnitratlösung voluminöser, weisser Niederschlag, in Ammoniak sehr leicht löslich.

Neutrales Bleiacetat: Ebenso.

Eisenchlorid: Ebenso, mit Natriumnitrat mächtiger gelber Niederschlag.

Kupfersulfat: Trübung, mit Natriumnitrat mächtiger bläulicher Niederschlag.

Quecksilberchlorid: Trübung, mit Natriumnitrat mächtiger gelatinöser Niederschlag.

Man kann dieses eigenthümliche Verhalten benutzen, um sich, etwa mit Hilfe von Silbernitrat, zu überzeugen, ob einer salzfreien Myosinogenlösung nennenswerthe Mengen Paramyosinogen beigemischt sind. Ich habe wiederholt bemerkt, dass eine durch Diffusion hergestellte Myosinogenlösung auf Zusatz von Silbernitrat sich trübte, oder einen spärlichen Niederschlag gab. Wurde nun die Lösung auf 50—52° erhitzt, so entstand ein Niederschlag; das Filtrat derselben gab nunmehr mit Silbernitrat geprüft keine deutliche Trübung mehr. Das, was jene Trübung, bzw. jenen Niederschlag verursacht hatte, konnte also nicht ein Rest von Chlornatrium gewesen sein, sondern vielmehr dasjenige, was bei 50—52° entfernt worden war, nämlich ein Rest von Paramyosinogen.

12. Durch Pepsin und Salzsäure wird das Myosinogen völlig verdaut.

13. Specifische Drehung: Starke Linksdrehung. Wegen Eigenfärbung und nicht hoher Concentration der Lösungen konnte die Drehungsconstante nicht genau ermittelt werden.

14. Zusammensetzung.

Reine Myosinogenlösung wird in einem Becherglase mit dem 4fachen Volumen Alkohol von 95 Proc. versetzt und 24 Stunden lang am Wasserbade erwärmt. Es setzt sich ein grobflockig klumpiger Niederschlag ab. Der Alkohol wird abgehebert und der Niederschlag mit heissem Wasser übergossen, welches 3—4 mal durch Decantiren gewechselt wird. Der Zweck dieses Vorganges ist, die geringen, dem Niederschlage an-

haftenden Salzreste zu entfernen. Zur Beseitigung des Wassers wird einigemal mit Alkohol von 95 Proc. decantirt und der Niederschlag sodann 24 Stunden lang unter absolutem Alkohol stehen gelassen. Schliesslich wird der Niederschlag noch wiederholt mit Aether gewaschen, in eine flache Schale gebracht und zuerst bei 50°, dann bei 100° getrocknet; sodann pulverisirt und in Wägegläschen bei 110° zur Gewichtskonstanz gebracht. Während der ganzen Procedur wird es vermieden, den Niederschlag auf ein Filter zu bringen, um eine Verunreinigung durch Papierfasern zu vermeiden.

Das auf diese Weise gewonnene Myosinogen ist ein sprödes Pulver von gelblich weisser bis bräunlich-gelber Farbe; dasselbe ist äusserst hygroskopisch.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	Mittel
C	52,56	52,68	52,84	—	—	—	—	—	—	52,69
H	6,80	7,04	6,95	—	—	—	—	—	—	6,93
N	—	—	—	16,15	16,25	—	—	—	—	16,20
S	—	—	—	—	—	1,01	1,05	—	—	1,03
Asche	—	—	—	—	—	—	—	0,43	0,46	0,45

Die Stickstoffbestimmungen sind nach Kjeldahl, die Schwefelbestimmungen nach Hammarsten ausgeführt.

Vergleichen wir die auf aschefreie Substanz berechnete Analyse mit den Zahlen, die Kühne und Chittenden¹⁾ für das Myosin feststellten, sowie mit den von Chittenden und Cummins²⁾ für ihr Myosin gefundenen Mittelwerthen, so tritt eine beachtenswerthe Aehnlichkeit der Zusammensetzung hervor. Wie später zu erörtern sein wird, entspricht Kühne's Myosin dem Paramyosinogen Halliburton's. Die zwei Hauptbestandtheile des Muskelplasmas, Myosinogen und Paramyosinogen, stehen einander sonach chemisch auffallend nahe.

	Myosinogen	Myosin Kühne und Chittenden	Myosin Chittenden und Cummins
C =	52,93	52,79	52,82
H =	6,96	7,12	7,11
O =	22,80	21,97	21,90
N =	16,27	16,86	16,77
S =	1,04	1,26	1,27
	100,00	100,00	

Halliburton gebührt das Verdienst, das Myosinogen zuerst dargestellt und beschrieben zu haben; doch ist dasselbe auch Kühne's Aufmerksamkeit nicht entgangen. Es entspricht dem Kalialbuminat Kühne's. Nach seinen Eigenschaften ist jedoch das Myo-

1) Myosin und Myosinogen. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXV. 1889.

2) The nature and composition of the myosin of muscle tissue. Studies from the laboratory of Physiol. Chemistry. Yale University. III. 1889.

sinogen weder ein Albuminat, noch ein Globulin oder Nucleoalbumin, sondern ein Eiweisskörper *sui generis*.

IV. Die spontan gerinnenden Bestandtheile des Muskelplasmas.

Wie aus früher Mitgetheiltem hervorgeht, können sowohl das Paramyosinogen, als auch das Myosinogen schon bei gewöhnlicher Temperatur spontan in fibrinähnliche, unlösliche Modificationen übergehen, das Myosin- und das Myogenfibrin. Der Verlauf dieser Umwandlung ist aber nicht in beiden Fällen der gleiche. Bei der Umwandlung des Paramyosinogens tritt zu keiner Zeit ein lösliches Zwischenproduct auf. Beim Myosinogen dagegen geht der Ausscheidung des unlöslichen Endproductes stets die Bildung eines löslichen Zwischenproductes von niedriger Gerinnungstemperatur voraus. Dieser Körper, das lösliche Myogenfibrin, verdient eine nähere Betrachtung. Es tritt uns einerseits als präformirter Bestandtheil des Plasmas, anderseits als Umwandlungsproduct des Myosinogens entgegen.

Die Existenz eines bei gewöhnlicher Temperatur ausfallenden (gerinnenden) oder bei circa 40° coagulirenden Eiweisskörpers ist den meisten Untersuchern des Muskelplasmas aufgefallen.

Kühne beobachtete schon im Jahre 1859, dass die mit Natriumchlorid (0,5 Proc.) bereitete Pressflüssigkeit frischer, entbluteter Froschmuskeln bei 40° augenblicklich einen flockigen Niederschlag gab; bei 35° bis 38° trat derselbe erst nach ½ Stunde, bei 30° nach 1 Stunde auf. Extrahirte er dagegen Froschmuskeln, die schon längere Zeit gehörig todtstarr waren, so gab der Auszug keine Gerinnung unterhalb 43 bis 45°. Im Plasma warmblütiger Thiere beobachtete er beim Stehen höchstens Bildung sehr spärlicher Flocken.

Als Kühne später durch sein Kälteverfahren Froschmuskelplasma in concentrirtester Form darstellte, fand er abermals, dass es die Eigenschaft habe, zu gerinnen. Die Gerinnung trat bei 0° sehr langsam, bei 40° dagegen in unmessbar kurzer Zeit ein.

Im Gegensatze zu den Extracten aus Froschmuskeln fand er bei der analogen Untersuchung von Auszügen aus Hunde- und Kaninchenmuskeln, dass hier die Gerinnung erst jenseits 45° auftrat.

Es finden sich jedoch bei Kühne diesen Gegenstand betreffende Angaben noch in einem ganz anderen Zusammenhange. Kühne beobachtete nämlich, dass sein vom Muskelgerinnsel abgetrenntes Muskelserum sich nach einiger Zeit derart veränderte, dass es schon bei 32° einen Niederschlag gab. Er bezog diese Erscheinung auf die nachweisbare Zunahme der sauren Reaction, wodurch die Gerinnungstemperatur, wie bei Albuminat (Rollet), herabgedrückt werden soll.

Danilewsky¹⁾ fiel es auf, dass manche seiner, aus Muskeln zahl-

1) Ueber die Abhängigkeit der Contractionsart der Muskeln von den Mengenverhältnissen einiger Bestandtheile. Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. VII. 1882—1883.

reicher Thierspecies mit 10—15 proc. Ammoniumchlorid bereiteten Auszüge ganz klar, andere aber trüb waren. Die Trübung liess sich nicht durch das Filter beseitigen und verwandelte sich, etwa nach $\frac{1}{2}$ Stunde in zarte Flocken. Danilewsky schreibt diese Trübung dem Vorhandensein eines Körpers zu, der mit dem „Myosin“ nicht identisch und in Ammoniumchlorid nicht eigentlich löslich, sondern in fein vertheiltem Zustande gequollen sei. Die Menge dieses Körpers sei in den Muskeln verschiedener Thiere bedeutenden Schwankungen unterworfen; je reicher der Muskel an Gerüstsubstanz, desto reichlicher finde sich der Körper.

Halliburton fand, dass ein durch Auspressen von frischen, ausgebluteten, bei -12° zum Gefrieren gebrachten Kaninchenmuskeln erhaltenes Plasma, unter Eintritt saurer Reaction, bei Winterlufttemperatur innerhalb 1—2 Stunden, bei $35-40^{\circ}$ innerhalb 20—40 Minuten gerann. Das Gerinnsel, welches er als „Myosin“ bezeichnet, zog sich nach einigen Stunden zusammen und presste einige Tropfen Serum aus. Es zertheilte sich leicht beim Schütteln und nahm beim Verdünnen den Charakter eines Niederschlages an. Er fand es in Natriumchloridlösung von 10 Proc. leicht löslich. Todtenstarre Muskeln gaben bei gleicher Behandlung ein saures Plasma, welches nicht gerann. In einem solchen Falle beobachtete Halliburton, dass bei 40° ein flockiger Niederschlag entstanden war, der sich als in Natriumchloridlösung von 10 Proc. unlöslich und nur in starken Mineralsäuren löslich erwies. Dasselbe wird demzufolge nicht als Myosin, sondern vielmehr als Wärmecoagulum angesehen.

Weiters extrahirte Halliburton sowohl frische, als auch todtenstarre Kaninchenmuskeln mit 10 proc. Natriumchlorid-, 5 proc. Magnesiumsulfat- oder halbgesättigter Natriumsulfatlösung; die frischen Muskeln wurden zum Gefrieren gebracht und in der Kälte verarbeitet. Halliburton kam zum Ergebnisse, dass Beimengung von Neutralsalzen zum Plasma die Gerinnung hindere, dass dagegen durch Verdünnung mit Wasser die Gerinnung ermöglicht wird, welche

bei $30-40^{\circ}$ momentan,

bei niedrigerer Temperatur langsam,

bei 0° gar nicht erfolgt.

Bei der Gerinnung findet er stets eine Zunahme der Acidität. Die Acidität sei durch Milchsäure und saures phosphorsaures Kali bedingt. Doch ist er der Meinung, das Auftreten der Milchsäure sei nicht die Ursache, sondern eine Begleiterscheinung der Myosinbildung; es hätten vielmehr beiderlei Erscheinungen eine gemeinschaftliche Ursache, nämlich die Wirkung des Myosinferments.

Vom gleichen Standpunkte aus beurtheilte Halliburton auch jene Erscheinungen, die er an seinen Myosinogenlösungen zu beobachten Gelegenheit hatte. Er giebt an, eine Myosinogenlösung coagulire bei 56° ; werde die Lösung aber verdünnt oder mit Myosinferment versetzt, so erfolge Coagulation, am schnellsten bei $35-40^{\circ}$. So gebe eine reine Lösung mit Wasser verdünnt geringe Gerinnung nach 24 Stunden bei 38° , mit Myosinferment verdünnt Gerinnung nach 2 Stunden bei 38° .

Vorkommen des löslichen Myogenfibrins. Schon aus Kühne's Versuchen ergibt sich, dass das Plasma aus frischen

Froschmuskeln erhebliche Mengen löslichen Myogenfibrins enthält. Ich habe es im Extracte von Froschmuskeln, den ich mit Natriumchlorid (0,6 Proc.) bereitete, niemals vermisst. Da, nach Kühne's Erfahrungen, die Muskeln lebender Frösche, genau so wie ihr Extract, erstarren, sobald ihre Temperatur 40° erreicht hat, so ist anzunehmen, dass der bei 40° gerinnende Eiweisskörper in den Froschmuskeln *intra vitam* vorhanden sei.

Bezüglich der Säugethiermuskeln musste es a priori unwahrscheinlich erscheinen, dass darin eine Substanz *intra vitam* vorkommt, die bei Körpertemperatur coagulirt. Kühne fiel es auf, dass die spontane Gerinnung des Muskelplasmas von Kaninchen sich auf Bildung von sehr spärlichen Flocken beschränke. Auch stellte er fest, dass die Wärmestarre im Hundemuskel erst bei $49-50^{\circ}$ eintrete. — Ich habe zahlreiche, aus Kaninchenmuskeln bereitete Plasmen von diesem Gesichtspunkte aus geprüft und bin gleichfalls zum Ergebnisse gekommen, dass die Menge jenes Eiweisskörpers, der sich unterhalb 40° ausscheidet, stets eine relativ geringe ist, und dass derselbe oftmals ganz fehlt. Wenn von einem Plasma, dass diese Substanz enthielt, zwei Proben genommen und eine von denselben schnell erhitzt wurde, so sah man zwischen $30-40^{\circ}$ in der stets opalescenten Flüssigkeit die Bildung zarter Flocken; dieselben setzten sich bald ab und bildeten einen Niederschlag; die Flüssigkeit über demselben war entschieden heller als vordem. Der Niederschlag imponirt nach dem Absitzen durch sein Volumen, insofern derselbe $\frac{1}{10}-\frac{1}{5}$ der Flüssigkeit einnimmt; man braucht denselben aber nur aufzuschütteln, um sich von der Spärlichkeit derselben zu überzeugen. Im frischen Kaninchenmuskelplasma habe ich seine Menge kaum je über 1 Proc. der Gesamteiweissmenge steigen sehen. Lässt man nun die Parallelprobe einige Stunden bei Zimmertemperatur oder in der Kälte stehen, so sieht man in derselben gleichfalls die Bildung eines flockigen Niederschlages eintreten, der, was Aussehen, Menge und chemisches Verhalten betrifft, der bei $30-40^{\circ}$ entstandenen Fällung durchaus gleicht.

Im Natriumchloridextracte von Krebsmuskeln habe ich das lösliche Myogenfibrin vermisst.

Bedingungen der Bildung von löslichem Myogenfibrin aus Myosinogen.

Wird eine salzhaltige Myosinogenlösung 24 Stunden lang im Eisschranke aufbewahrt, so bemerkt man gewöhnlich, dass sie sich getrübt und einen feinflockigen Myogenfibrinniederschlag abgesetzt hat.

Wird dieselbe Lösung, die sich bei schnellem Erhitzen erst jenseits 50° zu trüben begann, dauernd bei einer Temperatur von 30—40° erhalten, so tritt, etwa nach 1/2—1 Stunde Trübung auf; nach 1 bis 6 Stunden hat sich ein Coagulum gebildet.

Die Form des Coagulums zeigt eine grosse Mannigfaltigkeit, je nach der Concentration der Lösung und der Schnelligkeit, mit der sich das Eiweiss niederschlägt, je nachdem ob die Flüssigkeit ruhig stehen gelassen, oder häufig geschüttelt worden ist.

Das eine Mal scheidet sich das Myogenfibrin in Form eines zuerst feinflockigen, dann grobflockigen, endlich klumpig-cohärenten Niederschlages ab. — Ein anderes Mal bildet es einen netzartigen Belag an der Gefässwand. Häufig entsteht ein Gerinnsel, eine zusammenhängende, durchscheinende Masse, welche die ganze Flüssigkeit ausfüllt oder aber darin flottirt; zuweilen sieht man membranartige Gerinnsel, welche einem zarten Schleier gleich, in der Flüssigkeit schweben.

Es haben manche Autoren grossen Werth gelegt auf den Gegensatz zwischen Gerinnsel und Niederschlag. In dieser Hinsicht scheint mir neben anderen folgende, an Fischplasma gemachte Beobachtung instructiv:

Proben des frisch bereiteten Plasmas wurden im Eisschranke, und bei 10°, bei 15°, sowie bei 40° aufgestellt. Nach 2 Stunden zeigten die Proben folgendes Verhalten: Im Eisschranke hatte sich ein grobflockiger Niederschlag abgesetzt, bei 10° und ebenso bei 15° hatte sich ein zusammenhängendes, zitterndes Gerinnsel gebildet, welches fast die ganze Flüssigkeit ausfüllte; auch bei 40° fand sich eine zitternde Gallerte. In allen Fällen hatte es sich um eine Myogenfibrin-, bez. Myosinfibrinausscheidung gehandelt.

Auffallend war das Verhalten eines Gerinnsels, das sich aus einem stark verdünnten nach Halliburton dargestellten Magnesiumsulfatplasma bei 35° abgeschieden hatte: Es bestand aus gallertigen Massen. Abfiltrirt und ausgewaschen, zog sich die weiche Gallerte zu rundlichen, durchsichtigen Stücken zusammen, welche so hart waren, dass sie beim Drücken zwischen den Fingern wegschlüpfen.

Die Umwandlung des Myosinogens zu Myogenfibrin erfolgt bei höherer Temperatur erst sehr rasch, dann immer langsamer. Selbst bei 14tägigem Stehen bei 40° bleibt schliesslich noch ein Rest unveränderten Myosinogens übrig.

Neben der Temperaturerhöhung ist die Gegenwart von Salzen von grösstem Einflusse auf die in Rede stehende Umwandlung. Durch Dialyse erhaltene Myosinogenlösungen sind relativ beständig. Sie verändern sich bei 24stündigem Stehen im Eisschranke, oft auch bei Zimmertemperatur gar nicht, oder zeigen dann nur eine geringe Opalescenz. Eine Erniedrigung des Coagulationspunktes kann ganz fehlen. Bei anhaltendem Erwärmen auf 35—40° liefern sie erst nach Stunden spärliche Niederschläge.

Versetzt man Proben einer solchen Lösung mit Neutralsalzen,

so beobachtet man, je nach Natur und Menge des Salzes, mehr oder weniger rasch und reichlich das Auftreten des bei 40° fällbaren Umwandlungsproductes.

Ich habe über die durchaus ungleiche Wirksamkeit der verschiedenen Salze in dieser Richtung zahlreiche Versuche angestellt, deren Wiedergabe, als den Gang der gegenwärtigen Darstellung störend, der eingangs in Aussicht gestellten weiteren Mittheilung vorbehalten bleiben soll. An dieser Stelle sei nur hervorgehoben, dass sich kein Salz als ganz indifferent erwies. Von den zur Darstellung der Eiweisskörper des Muskelplasmas benutzten Salzen ist das Ammoniumchlorid besonders wirksam; weniger eingreifend erwies sich das Chlornatrium; das relativ am wenigsten wirksame war das Ammoniumsulfat. Im Allgemeinen nimmt die verändernde Wirkung mit der Concentration zu.

Es ist nunmehr einleuchtend, dass concentrirte Salzlösungen im Allgemeinen, Ammoniumchlorid aber ganz besonders, bei Reindarstellung des Myosinogens vermieden werden müssen, und dass in dieser Richtung das Diffusionsverfahren den auf Salzfüllung basirenden Methoden weit vorzuziehen ist.

Wenn Halliburton auf die Anwendung concentrirter Salzlösungen besonderen Werth legte, da er von der Vorstellung geleitet war, die Gerinnung im Muskelplasma werde gerade so durch Salze verhindert, wie im Blutplasma, so geht aus dem Angeführten hervor, dass gerade diese Versuchsanordnung zur Lösung der in Angriff genommenen Fragen nicht die geeignete war.

Schon die einfache Thatsache, dass sich in Bezug auf die Bildung des bei 40° gerinnenden Körpers und dessen spontane Abscheidung das Muskelplasma und reine Myosinogenlösung gleich verhält, zeigt, dass das Myosinogen die Muttersubstanz des löslichen und damit auch des unlöslichen Myogenfibrins darstellt. Dasselbe geht aus den angeführten Temperatur- und Salzversuchen hervor. Nach Klarstellung der Bedingungen, von denen die in Rede stehende Umwandlung des Myosinogens abhängt, ist es leicht, den Vorgang an reiner Myosinogenlösung in beliebiger Weise zu demonstrieren.

Wir hätten z. B. eine salzfreie Myosinogenlösung, die bei 55° coagulirt. Wir versetzen dieselbe mit 5 Proc. Kaliumchlorid und prüfen sofort wieder den Coagulationspunkt; derselbe ist um einige Grade herabgesunken und findet sich bei 50—52°; die Erscheinung ist nicht weiter von Belang; der Coagulationspunkt eines Eiweisskörpers wird durch Salzzusatz ganz gewöhnlich ein wenig herabgedrückt. — Wir lassen die Lösung 24 Stunden im Eisschranke stehen. Wir finden sie nach dieser Zeit

noch ganz klar. Die Prüfung des Coagulationspunktes belehrt uns aber darüber, dass sich eine Veränderung in ihr vollzogen hat. Sie coaguliert nunmehr schon bei 40°. — Wir lassen jetzt die klare Lösung bei Zimmertemperatur stehen: Innerhalb weniger Stunden trübt sie sich und scheidet ein Myogenfibrincoagulum ab.

Ein anderes Beispiel: Eine reine Myosinogenlösung, die bei 55° coaguliert, wird mit Ammoniumchloridlösung von 15 Proc. versetzt. Die Anfangs klare Lösung trübt sich nach einiger Zeit und schon nach ½ Stunde hat sich ein reichlicher Myogenfibrinniederschlag gebildet. Wir filtriren denselben ab und constatiren, dass das Filtrat bereits bei 35° coaguliert, also lösliches Myogenfibrin enthält. Benutzen wir statt der 15 proc., eine 7 proc. Ammoniumchloridlösung, so bleibt die Flüssigkeit einige Stunden lang klar, zeigt aber den Coagulationspunkt des löslichen Myogenfibrins. Später entsteht ein Myogenfibrinniederschlag.

Solche absichtlich angestellte, aber auch zahlreiche gelegentlich gemachte Beobachtungen lehrten, dass, je nach Temperatur und Salzgehalt, die Umwandlung des Myosinogens zunächst blos zur Bildung von löslichem Myogenfibrin oder aber bei intensiverer Einwirkung, zur Abscheidung des unlöslichen Productes führt.

Wie bereits erwähnt, kann man bei der spontanen Coagulation des Paramyosinogens das Auftreten eines löslichen Zwischenproductes nicht nachweisen.

Die Analogie des Ueberganges von Myosinogen in eine fibrinähnliche Modification mit dem Vorgange, den man als Ursache der Todtenstarre ansieht, gab mir Veranlassung zu prüfen, ob sich dieser Uebergang mit Zunahme der Acidität abspielt, wie das Halliburton direct annimmt. Derselbe giebt an, dass sowohl, wenn Muskelplasma gerinnt, als auch, wenn sich ein Gerinnsel („Myosin“) aus Myosinogen bildet, Säure entstehe. Salzplasma aus todtenstarren Muskeln reagire sauer; gerinne dasselbe wieder, so nehme die Acidität zu, wie durch Titration mit Natronlauge ermittelt wurde. — Demgegenüber sei aber die Beobachtung Kühne's angeführt, dem es auffiel, dass in dieser Beziehung keine Uebereinstimmung zwischen der Organflüssigkeit und dem Organe bestehe. Er sah, dass bei spontaner Gerinnung die saure Reaction ausbleiben kann, und äusserte die Meinung, dass saure Reaction und Gerinnung nicht nothwendig an einander gebunden seien. — Zur nochmaligen Prüfung der Frage wurde folgendes Verfahren eingeschlagen.

Reine, durch Diffusion bereitete Myosinogenlösung wurde in 4 Portionen getheilt:

- a) wurde ohne Weiteres verarbeitet,
- b) wurde auf 100° erhitzt,
- c) wurde auf 62° erhitzt,
- d) wurde 15 Stunden lang bei 35° erhalten.

Die in b), c) und d) entstandenen Coagula wurden abfiltrirt und von a) sowie von den Filtraten je einige Proben zu 10 ccm abgemessen. Diese Proben wurden mit $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge titrirt, wobei Phenolphthalein als Indicator diente. — In sämtlichen Proben ergab sich mit der grössten Uebereinstimmung 0,5—0,6 ccm $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge als Maass für die Acidität.

Ein analoger Versuch wurde, statt mit reiner Myosinogenlösung mit Muskelplasma vorgenommen und ergab dasselbe Resultat. Nur war das in allen Proben übereinstimmend gefundene Maass für die Acidität entsprechend grösser. Es betrug 3,6—3,7 ccm $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge auf 10 ccm der Flüssigkeit.

Wir haben also keinen Anhaltspunkt anzunehmen, dass bei der Bildung von Myogenfibrin Säure entsteht.

Eigenschaften des löslichen Myogenfibrins. Ich habe mich vergebens bemüht, das lösliche Myogenfibrin rein darzustellen; es gelang mir nicht, dasselbe in gelöster Form von seiner Muttersubstanz, dem Myosinogen, getrennt zu erhalten. Die eben mitgetheilten Beobachtungen über sein Vorkommen und seine Entstehung genügen, um seine Individualität sicher zu stellen. Weiteres Material lieferte der Vergleich einer reinen Myosinogenlösung mit einer solchen, die lösliches Myogenfibrin enthält.

In Betreff der Umwandlung des löslichen Myogenfibrins in die unlösliche Modification sei nur recapitulirend bemerkt, dass je höher die Temperatur ist, desto schneller die Umwandlung erfolgt, nahezu augenblicklich bei 30—40°, welche Temperatur also gewissermaassen als Coagulationspunkt dieses Körpers gelten darf.

In der Regel trübt sich eine Lösung, welche lösliches Myogenfibrin enthält, bei schnellem Erhitzen jenseits 30° und giebt zwischen 32—40° einen Niederschlag; meist erfolgt die Fällung in der Nähe von 35°. In einem Falle sah ich, dass eine Lösung sich bei 23° trübte und schon bei 26° einen reichlichen Niederschlag absetzte.

Fällung durch Ammonsulfat. Die Fällungsgrenzen des löslichen Myogenfibrins decken sich, wenigstens zum Theile, mit denen des Paramyosinogens.

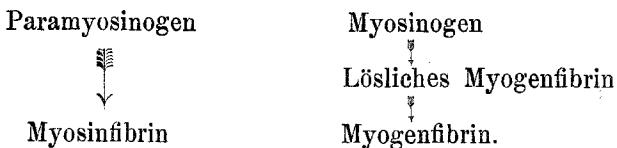
Um eine Vorstellung über die Fällungsgrenzen dieses Körpers zu gewinnen, wurde folgendermaassen verfahren. Muskelplasma wurde in zwei Hälften getheilt; die eine Hälfte wurde nativ verarbeitet; die andere Hälfte wurde auf 42° erhitzt und der spärliche Niederschlag abfiltrirt. — Mit beiden Hälften wurden Serienversuche nach Kauder angestellt; es fand sich, hier wie dort, der Beginn der Fällung bei 12 Proc. Salzgehalt, entsprechend der Fällungsgrenze des Paramyosinogens. — Wurden aber, im Spatium des Paramyosinogens, nämlich zwischen 12 bis 26 Proc., die homologen Proben beider Serien verglichen, so zeigte es

sich, dass die abgesetzten Niederschläge des nativen Plasmas reichlicher waren, als jene des vom löslichen Myogenfibrin befreiten Filtrats.

Diffusion. Da dialysirtes und filtrirtes Muskelplasma kein lösliches Myogenfibrin zu enthalten pflegt, dürfte der Schluss erlaubt sein, dass dieser Körper durch Dialyse fällbar sei.

Die Analogie im Verhalten des Paramyosinogens und des löslichen Myogenfibrins gegen Ammonsulfat und bei der Diffusion, die grosse Aehnlichkeit der chemischen Zusammensetzung des Paramyosinogen und der Muttersubstanz des löslichen Myogenfibrins, endlich die grosse Neigung beider Körper, in eine unlösliche Modification überzugehen, könnte den Gedanken erwecken, dass es sich in beiden Fällen um dieselbe Substanz handle, dass gewissermaassen das Paramyosinogen den im Muskel präformirten Antheil des löslichen Myogenfibrins darstellt. Dieser Gedanke muss jedoch, in Hinblick auf die constante Differenz der Coagulationspunkte und auf die Unmöglichkeit, von reinem Myosinogen je zu Paramyosinogen zu gelangen, zurückgewiesen werden. Aber auch die Vorstellung, dass das Paramyosinogen ein Zwischenproduct bei der Umwandlung des Myosinogens in lösliches Myogenfibrin darstellt, entspricht nicht den Thatsachen, da in diesem Falle bei der Spontangerinnung des Paramyosinogens das Auftreten von löslichem Myogenfibrin zu erwarten wäre, was nicht zu beobachten ist. Wird eine Paramyosinogenlösung mit einem Neutralsalze gefällt und der Niederschlag wieder in Lösung gebracht, so findet sich in derselben niemals lösliches Myogenfibrin, während bei gleicher Behandlung einer reinen Myosinogenlösung dieser Körper niemals vermisst wird.

Die genetische Beziehung der aus dem Muskelplasma zur Ausscheidung kommenden Muskelfibrine lässt sich sonach schematisch auffassen, wie folgt:



V. Die übrigen Eiweisskörper des Muskelplasmas.

1. **Albumin.** Albumin wurde von Kühne im Muskelserum gefunden. Während Kühne angiebt, die Menge desselben sei eine sehr bedeutende, hebt Halliburton mit Recht hervor, dass die Quantität dieses Körpers stets eine geringe, oft eine minimale sei. Ich habe ihn in vielen Fällen, namentlich, wenn die Muskeln sehr

vollkommen vom Blute befreit waren, nur in Spuren vorgefunden, nachweisbar durch eine jenseits 70° auftretende Opalescenz oder Trübung. Dieses Verhalten spricht sehr zu Gunsten der Annahme, dass das Albumin eine unwesentliche, dem Blute, bzw. der Lymphe entstammende Beimengung sei.

Das Albumin kann folgendermaassen dargestellt werden: Plasma wird auf 70° erhitzt und das Coagulum abfiltrirt; das klare Filtrat wird mit Ammonsulfat gesättigt; der entstandene Niederschlag wird abfiltrirt, mit saturirter Ammonsulfatlösung gewaschen, abgepresst, endlich in Wasser gelöst.

Man erhält so eine klare Lösung von gelblicher Farbe, die sich auch nach längerem Stehen nicht trübt. Ich habe eine Lösung wiederholt durchfrieren und wieder aufthauen lassen, ohne dass sie sich verändert hätte. Durch Verdünnung und Diffusion wird sie nicht gefällt, wohl aber trübt sie sich jenseits 70° und giebt bei 73—80° einen Niederschlag. Die Lösung wird von Ammonsulfat, nicht aber von Natriumchlorid oder Magnesiumsulfat gefällt. Essigsäure giebt weder Trübung noch Niederschlag, ebensowenig Einleiten von Kohlendioxyd, wohl aber Salpetersäure. Nach Ueberführung in Albuminat mit Natronlauge giebt Ammoniumchlorid keine Fällung. Aether giebt keine Fällung (Kühne).

2. Das Myoglobulin Halliburton's. Halliburton stellte das Myoglobulin in folgender Weise dar: Plasma wurde mit soviel Magnesiumsulfat versetzt, dass auf je 100 cem desselben 94 g Magnesiumsulfat kamen. Der Niederschlag von Paramyosinogen und Myosinogen wurde abfiltrirt und das Filtrat mit Magnesiumsulfat gesättigt. Der entsprechende Niederschlag wurde mit Magnesiumsulfat gewaschen und mit Wasser in Lösung gebracht.

Was die Charakteristik betrifft, führt Halliburton folgendes an: dieser Körper ist ein Globulin; er ist aus seinen Lösungen durch Dialyse fällbar, sowie bei vollständiger Sättigung mit Magnesiumsulfat oder Natriumchlorid; der Niederschlag wird durch langes Waschen nicht unlöslich. Die Lösung coagulirt bei 63°.

Halliburton stellt das Myoglobulin als Globulin des Muskelserums den Globulinen des Muskelgerinnsels, dem Paramyosinogen und Myosinogen gegenüber und nimmt an, dass während die beiden Letzteren zur Bildung des Gerinnsels zusammentreten, das Myoglobulin im Serum gelöst bleibt.

Ich habe eine grosse Anzahl von Versuchen angestellt, um mich von der Existenz dieses Körpers zu überzeugen; ich versuchte es mit der fractionirten Fällung durch Coagulation, durch Ammonsulfat, Magnesiumsulfat, Natriumchlorid, mit Serienversuchen nach Kauder, mit Essigsäure und Alkohol.

Es haben mich alle Versuche, deren Anführung viel zu weit-

schweifig wäre, zur Ueberzeugung geführt, dass das Myoglobulin nicht verschieden ist vom Myosinogen. Es ist nichts Anderes, als jener Antheil des Myosinogens, der bei der fractionirten Fällung durch Erhitzung und durch Salz zuletzt ausfällt.

Wurde z. B. natives Plasma 24 Stunden lang auf 56° erhitzt und das entstandene Coagulum abfiltrirt, so gab eine Probe des Filtrates allerdings bei schnellem Erhitzen in der Nähe von 63° einen Niederschlag. — Wurde aber jenes Filtrat weitere 24 Stunden auf 56° erhitzt, so entstand nach einiger Zeit abermals ein Niederschlag und nach Entfernung desselben zeigte es sich, dass das Filtrat, bis auf Spuren von Albumin, die bei 75° eine Trübung bewirkten, eiweissfrei war.

Nachdem eben die Hauptmasse des Myosinogens zwischen 55—60° ausgefallen ist, weist der Myosinogenrest, entsprechend der relativen Verdünnung der Lösung, den Coagulationspunkt stark verdünnter Myosinogenlösungen auf; derselbe liegt aber, wie oben ausgeführt worden ist, zwischen 60—65°.

Die Fällbarkeit bei der Dialyse, auf die Halliburton hinweist, kann durch spontane Abscheidung von Myogenfibrin vorgetäuscht worden sein.

3. Die Myoalbumose Halliburton's. Halliburton nahm an, das Muskelplasma enthalte eine Albumose und vermuthete, dieselbe sei mit seinem Myosinferment identisch oder sehr eng verbunden.

Seitdem hat Whitfield¹⁾ in einer unter Halliburton's Leitung ausgeführten Arbeit nachgewiesen, dass der Muskel keine Albumose enthalte.

Es ist mir, in Uebereinstimmung damit, nie gelungen, eine Albumose im Muskelplasma nachzuweisen.

4. Das Myoproteid. Während das Muskelplasma der Warmblüter neben dem Paramyosinogen, dem Myosinogen und dem löslichen Myogenfibrin weiter keine Eiweisskörper in beachtenswerther Menge enthält, findet sich im Muskelplasma der Fische ein von den verbreiteten Eiweisskörpern in seinen Eigenschaften verschiedener Stoff, den ich vorläufig als Myoproteid bezeichnen will.

Darstellung. Anfänglich diente blutfrei dargestelltes Muskelplasma von Karpfen als Ausgangsmaterial. Die Bereitung des Plasmas wurde oben beschrieben. Später stellte sich heraus, dass ein so umständliches Verfahren, soweit es nur auf das Myoproteid ankommt, unnöthig ist, und dass man ebenso gut käufliches Fischfleisch, z. B. Seefische, wie sie hier zu Lande im Handel vorkommen, dazu verwenden könne.

1) Journ. of Physiol. Vol. XII. 1894.

Die Muskeln wurden mit Hilfe einer Fleischhackmaschine gut zerkleinert und mit physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von Bimstein zu einem dicken Brei verrieben. Der Muskelbrei wurde in ein Colirtuch geschlagen und mit einer Tincturenpresse ausgepresst. Das so erhaltene Muskelplasma ist trüb, stark blutig tingirt, von ausgesprochen alkalischer Reaction und unverkennbarem Geruch nach Trimethylamin.

I. Es wird vorsichtig mit verdünnter Essigsäure versetzt, derart, dass sich blaues Lakmuspapier stark roth färbt, sehr empfindliches rothes Papier aber noch einen Stich ins Bläuliche aufweist. Sodann wird die Flüssigkeit 10 Minuten lang gekocht und hierauf das massige Eiweisscoagulum abfiltrirt. Man erhält so ein ganz klares goldgelbes Filtrat. Man kann nunmehr in zweifacher Weise vorgehen.

A) Das Filtrat wird mit Ammonsulfat in Substanz gesättigt, der entstandene Niederschlag abfiltrirt, mit saturirter Ammonsulfatlösung gut ausgewaschen, zwischen Filtrirpapier abgepresst; sodann durch Zusatz von Wasser in Lösung gebracht.

B) Das schwach saure Filtrat wird mit mehr Essigsäure versetzt. Erst bei stark saurer Reaction fällt ein weisser, flockiger Niederschlag aus. Derselbe wird, nachdem er sich abgesetzt hat, filtrirt, mit Wasser ausgewaschen, sodann mittelst sehr verdünnter Ammoniakflüssigkeit auf dem Filter gelöst. Die Auflösung erfolgt mit der grössten Leichtigkeit. Die so erhaltene klare Flüssigkeit wird wieder mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag abfiltrirt, abgepresst und abermals in sehr verdünntem Ammoniak gelöst. Die Lösung wird mit Essigsäure neutralisirt.

II. Die aus den Muskeln ausgepresste Flüssigkeit wird mit dem zweifachen Volumen 95 proc. Alkohol versetzt; es entsteht ein mächtiger Niederschlag; derselbe wird abfiltrirt und auf dem Filter mit Alkohol sorgfältig ausgewaschen. Sodann schwemmt man denselben in Wasser auf; der grösste Theil der Muskeleiweisskörper bleibt ungelöst; das Myoproteid nebst einem Theile des Myosinogens geht in Lösung. Das schwach alkalische Filtrat wird mit Essigsäure schwach angesäuert und sodann gekocht. Es entsteht ein reichliches Eiweisscoagulum; dasselbe wird abfiltrirt und das schwach saure Filtrat mit soviel Essigsäure versetzt, dass es stechend darnach riecht. Es entsteht erst bei stark saurer Reaction ein reichlicher, flockiger Niederschlag, der sich nach einiger Zeit gut absetzt. Derselbe wird abfiltrirt, mit verdünnter Essigsäure gut ausgewaschen, sodann auf dem Filter mit ammoniakhaltigem Wasser gelöst. Schliesslich wird die Lösung mit Essigsäure genau neutralisirt. — Mit Rücksicht auf die Ausbeute scheint es mir wesentlich zu sein, beim Ansäuern mit Essigsäure vor dem Kochen ein Zuviel an Essigsäure zu vermeiden, da sonst ein Theil des Myoproteids verloren geht.

Charakteristik der Substanz. Das Myoproteid giebt die allgemeinen Eiweissreactionen (Biuret, Millon, Niederschlag mit Jodquecksilberkalium, mit Phosphorwolframsäure u. s. w.). Seine alkalische Lösung schwärzt sich beim Kochen mit Bleiacetat. Es enthält keine nennenswerthe Menge Phosphor und wird durch Pepsinsalzsäure rasch verdaut. Beim Kochen mit 10 proc. Salzsäure

durch 5—10 Stunden wird keine reducirende Substanz abgespalten. Die Lösung trübt sich weder bei langem Stehen, noch bei Verdünnung mit Wasser. Sie bleibt nach 3tägiger Diffusion gegen fliessendes Wasser klar, ebenso nach 15stündigem Einleiten von Kohlendioxyd.

Beim Kochen bleibt die neutrale oder schwach saure Lösung klar.

Essigsäure giebt bei reichlichem Zusatze einen flockigen Niederschlag, der im Ueberschusse der Säure löslich ist.

Die Fällung erfolgt, im Gegensatze zum Myosinogen und Paramyosinogen erst bei einem hohen Grade von Acidität. Man kann bei vorsichtigem Zusatze von Essigsäure leicht einen Punkt erreichen, wo die Flüssigkeit noch ganz klar ist, trotzdem sie bereits stechend nach Säure riecht.

Wird eine stark verdünnte Lösung der Substanz mit Essigsäure versetzt, so entsteht kein Niederschlag, sondern nur eine Trübung; wird aber die saure Flüssigkeit gekocht, so entsteht nunmehr ein flockiger Niederschlag.

Wird eine Lösung mit Essigsäure versetzt, bis sie stark darnach riecht und sodann gekocht, so erweist sich das Filtrat des entstandenen Niederschlages eiweissfrei. Die Fällung war sonach eine vollständige.

Der Essigsäureniederschlag ist im grossen Ueberschusse der Säure vollständig löslich; die klare Lösung trübt sich nicht beim Kochen und giebt bei vorsichtigem Neutralisiren, noch bevor der Neutralisationspunkt erreicht ist, einen Niederschlag, der sich bei weiterem Zusatze von Alkali wieder löst.

Der Essigsäureniederschlag löst sich leicht in Natronlauge, Natriumcarbonat, Ammoniak, Natriumphosphat und Natriumacetat. Man erhält klare Solutionen, welche sich beim Kochen nicht trüben und durch Essigsäure gefällt werden. Die Lösung des Essigsäureniederschlages durch schwach alkalische Flüssigkeiten erfolgt auch, wenn der Niederschlag vorher gekocht worden war. Der Niederschlag wird sonach durch Siedehitze nicht in coagulirtes Eiweiss umgewandelt.

Die Essigsäurefällung wird durch Zusatz von Neutralsalzen nicht beeinträchtigt.

Salzsäure giebt einen, im Ueberschusse löslichen Niederschlag, ebenso Salpetersäure; die Lösung nimmt eine gelbrothe Färbung an.

Wird die Lösung mit Natronlauge erwärmt, sodann mit Ammoniumchlorid versetzt, so entsteht keine Fällung (Gegensatz zum Myosinogen).

Sättigung mit Natriumchlorid, Magnesiumsulfat und Ammoniumsulfat in Substanz bewirkt Fällung. Durch einen Serienversuch wird constatirt, dass die Fällung mit Ammonsulfat bei einem Salzgehalte von etwa 25 Proc. beginnt, dass aber die Hauptmasse der Substanz erst jenseits 35 Proc. zur Ausfällung gelangt.

Aethyl- und Methylalkohol bewirken Fällung.

Durch Zusatz von absolutem Alkohol aus einer Bürette zu abgemessenen Mengen der Lösung wurde constatirt, dass die Fällung bei einem Alkoholgehalte von 55—60 Proc. beginnt.

Der unter Alkohol aufbewahrte Niederschlag erwies sich nach 48 Stunden nach der Fällung als vollkommen löslich in Wasser. Lässt man den Niederschlag eintrocknen, so erfolgt die Lösung in Wasser nur langsam und unvollständig, leicht und schnell dagegen in Wasser, dem sehr wenig Ammoniak zugesetzt ist.

Chloroform giebt nach einiger Zeit bei 32° Fällung. Formaldehyd und Aceton geben Niederschläge, welche in Wasser schwer löslich sind, leicht dagegen auf Zusatz eines Tropfens Ammoniak. Petroläther giebt keine Trübung.

Soweit die mitgetheilten Reactionen ein Urtheil gestatten, kann das Myoproteid, da es weder Nuclein noch eine reducirende Substanz abspaltet, nicht den Nucleoalbuminen und auch nicht den Mucinen zugerechnet werden.

Im Muskelplasma der Krebse habe ich das Myoproteid vergebens gesucht.

Das Muskelplasma der Frösche gab nach Ausfällung der durch Erhitzen fällbaren Eiweissstoffe ein klares Filtrat, das sich auf Zusatz von Essigsäure trübte. Ob die ausfallende Substanz in ihren übrigen Eigenschaften mit Myoproteid zusammenfällt, wurde vorläufig nicht untersucht.

VI. Die quantitativen Verhältnisse der Eiweisskörper des Muskelplasmas.

Da das lösliche Myogenfibrin einerseits, das Albumin andererseits im Muskelplasma nur in geringer Menge auftreten, manchmal auch ganz fehlen, muss bei dem Aufsuchen eines Bestimmungsverfahrens das Hauptaugenmerk darauf gerichtet sein, eine quantitative Trennung des Myosinogens vom Paramyosinogen aufzufinden. Leider bietet weder die fractionirte Hitzefällung, noch die fractionirte Fällung mit Neutralsalzen eine scharfe Grenze zwischen dem Ende der Paramyosinogen- und dem Anfange der Myosinogenfällung. Immerhin ist es sicher, dass bei 50°, resp. bei 24 Proc. Ammonsulfat die Paramyosinogenfällung im Wesentlichen beendigt ist, die Myosinogenfällung aber noch nicht begonnen hat, wenn man auch nicht leugnen kann, dass unter diesen Bedingungen einerseits ein geringer Bruchtheil des Paramyosinogens der Fällung entgehen, anderseits aber bereits eine minimale Menge Myosinogen ausfallen kann. Wenn ich also die fractionirte Coagulation bei 50° und daneben die Salz-fällung benutzte, so that ich es nicht in der Meinung, damit eine ganz exacte quantitative Methode einzuführen, sondern in der Absicht, ein

wenigstens annähernd richtiges Bild über die Mengenverhältnisse der Plasmaeiweisskörper zu erhalten.

Das angewandte Verfahren gliederte sich, je nach Bedarf, in folgende Einzelbestimmungen:

- a) Bestimmung des Gesamteiweisses durch Coagulation bei 100°.
- b) Bestimmung des präformirten löslichen Myogenfibrins durch 5 Minuten langes Erhitzen auf 40°.
- c) Bestimmung des Paramyosinogens durch 5 Minuten langes Erhitzen auf 50°. Dabei fällt eventuell vorhandenes präformirtes Myogenfibrin mit aus. Seine in b) bestimmte Menge ist dann in Abzug zu bringen.
- d) Bestimmung des Myosinogens einschliesslich des Paramyosinogens und des präformirten löslichen Myogenfibrins durch kurzes Erhitzen auf 70°.
- e) Die Differenz des Gesamteiweissgehaltes und des bei d) ermittelten Werthes giebt den Gehalt an Serumalbumin.

Das nähere Vorgehen bei der Eiweissbestimmung war folgendes: Von dem zu untersuchenden Plasma wurden Portionen zu je 10 ccm in Eproutetten abgemessen; sodann die Proben im Wasserbade auf die gewünschte Temperatur erwärmt. Das entstandene Coagulum wurde mittelst eines mit Kautschuk armirten Glasstabes zu feineren Flocken zertheilt und sodann auf ein zur Gewichtsconstanz getrocknetes Papierfilter gebracht, mit Wasser chlorfrei gewaschen, mit Alkohol und Aether behandelt, endlich bei 110° getrocknet und gewogen.

Wurde die Methode der fractionirten Salzfällung mitbenutzt, so kam ein Verfahren in Verwendung, das der Methode von Hofmeister und Pohl¹⁾ zur Bestimmung des Globulins im Harn ganz analog ist.

Je 10 ccm des Muskelplasmas wurden mit 9 ccm einer gesättigten Ammonsulfatlösung versetzt, was einer Salzconcentration von 24 Proc. entspricht. Es entsteht ein reichlicher Niederschlag, der sich nach einiger Zeit absetzt. Nach einigen Stunden, während deren die Probe im Eisschranke aufbewahrt wird, bringt man den Niederschlag, der aus Paramyosinogen, eventuell auch aus präformirtem Myogenfibrin besteht, auf ein zur Gewichtsconstanz getrocknetes Papierfilter, das mit 24 proc. Ammonsulfatlösung befeuchtet ist, und wäscht ihn so lange mit einer 24 proc. Ammonsalzlösung, bis sich das Waschwasser als eiweissfrei erweist. Nuncmehr wird der Niederschlag auf dem Filter bei 110° coagulirt und die Bestimmung genau wie bei dem angeführten Verfahren zu Ende geführt.

Sämmtliche quantitativen Versuche wurden mit Kaninchenplasma ausgeführt; die absoluten Werthe beziehen sich immer auf 10 ccm desselben.

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XX. S. 426.

Versuch II.

	Niederschlag in g			Nieder- schlag in Proc.
	I	II	Mittel	
a) Gesamteiweiss	0,4198	0,4232	0,4215	100
b) 5 Minuten bei 40° = präform. Myogenfibrin . .	unbestimmbare Spuren			
c) " " 50° = Paramyosinogen	0,0735	0,0770	0,0752	17,88
d) " " 70° = Paramyosin. + Myosinogen	0,4082	—	—	96,84
e) Albumin	—	—	—	3,16

Das Verhältniss des Paramyosinogens zum Myosinogen stellt sich in diesem Versuche auf 18 : 79.

Betreffend die Neubildung der beiden Muskelfibrine ergaben Nebenversuche

	Niederschläge in g			Nieder- schlag in Proc.
	I	II	Mittel	
1. 5 Stunden bei 40°	0,0760	0,0756	0,0758	18,00
2. 5 Stunden bei 40°, dann 3 Minuten auf 50° . .	0,0886	0,0884	0,0885	21,00
3. 30 Minuten bei 65°	0,3830	0,3857	0,3843	90,70

Vergleicht man diese Zahlen mit den oben gegebenen, so ergibt sich, dass die in 2. gefallene Eiweissmenge (21 Proc.) nur um 3 Proc. grösser ist, als das dabei mitgefällte Paramyosinogenquantum. Es konnte sonach in diesem Falle das Myosinogen nur 3 Proc. an Muskelfibrin geliefert haben. Daraus ist zu entnehmen, dass das in 1. und 2. bei längerem Erhitzen auf 40° abgeschiedene Eiweiss zum grösseren Theile vom Paramyosinogen stammte.

Meine übrigen Versuche, soweit sie sich auf die Untersuchung frischer Muskeln beziehen, stelle ich nachstehend tabellarisch zusammen. Die angegebenen Werthe sind Procentwerthe, bezogen auf Gesamteiweiss = 100.

	Vers. III	Vers. IV.	Vers. Va ¹⁾	Vers. Vb ¹⁾
Präform. Myogenfibrin	0,82	unbestimmbar		
Paramyosinogen . . .	nicht bestimmt	17,24	16,25	22,52
Myosinogen	nicht bestimmt	82,76	83,75	77,48

Aus den angeführten Bestimmungen, wenn sie auch nicht allen Ansprüchen einer quantitativen Methode genügen, geht doch hervor:

1. Dass die Menge des im Kaninchenmuskelplasma präformirt

1) In Va wurde das Paramyosinogen durch Coagulation auf 50°, in Vb durch die Ammonsulfatmethode bestimmt. Die angeführten Zahlen sind Mittelwerthe wenig auseinander stehender Einzelbestimmungen. Die Differenz im Paramyosinogengehalt scheint dafür zu sprechen, dass das Ammonsulfat die leichter fällbaren Eiweisskörper vollständiger zur Abscheidung bringt. Doch habe ich in nicht angeführten Versuchen an todtstarren Muskeln nach beiden Verfahren nahezu identische Werthe erhalten.

vorhandenen löslichen Myogenfibrins stets eine sehr geringe ist und kaum je 1 Proc. des Gesamteiweisses erreicht.

2. Dass das längere Erhitzen bei 40°, rascher noch jenes bei 50° einen grossen Theil der gelösten Eiweisskörper zur Fällung bringt; dass diese Umwandlung zuerst sehr rasch und auf Kosten beider Eiweisskörper, dann immer langsamer und vorwiegend auf Kosten des Myosinogens vor sich geht und selbst bei 15 stündigem Erhitzen auf 50° bei Weitem nicht vollständig ist.

3. Dass das Verhältniss des Paramyosinogens zum Myosinogen im Muskelplasma sich annähernd wie 1:3—1:4 stellt.

Da es bisher an einem Verfahren fehlt, bei der Extraction des Muskelplasmas eine Erschöpfung des Muskelbreies unter Vermeidung von enormen Verlusten an den beiden so veränderlichen Hauptbestandtheilen durchzuführen, so lassen sich diese Zahlen nicht auf intacte lebende Muskelsubstanz umrechnen. Ich verzichte daher auch auf einen Vergleich mit den von Demant¹⁾ und Danilewsky²⁾ bei Untersuchung des Muskels selbst erhaltenen Werthen. Inwiefern dieses Verfahren zur Untersuchung der Vorgänge bei der Todtenstarre geeignet ist, sollen im Gange befindliche Versuche lehren.

VII. Ueberblick — Beziehungen der Eiweisskörper des Muskelplasmas zu einander und zum Myosin der Autoren.

Aus dem Mitgetheilten ergibt sich, dass das Muskelplasma im Wesentlichen folgende typische Eiweisskörper enthält:

1. Zu etwa 20 Proc. der Gesamteiweissmenge einen bei 47 bis 50° gerinnenden, durch Ammonsulfat bei einer Concentration von 12—24 Proc. ausfallenden, durch Diffusion fällbaren, sehr veränderlichen, sämtliche Charaktere eines Globulins darbietenden Eiweisskörper, das Paramyosinogen Halliburton's; und

2. zu etwa 75—80 Proc. der Gesamteiweissmenge einen bei rund 55—65° gerinnenden, durch Ammonsulfat bei einer Concentration von 26—40 Proc. fällbaren, durch Dialyse nicht ausfallenden, minder veränderlichen Eiweisskörper eigenthümlicher Art, das Myosinogen Halliburton's.

3. Daneben enthält das native Froschmuskelplasma stets und in reichlicher Menge, das Muskelplasma der Warmblüter nicht immer und dann nur in spärlicher Menge einen dritten Eiweissstoff³⁾, der

1) Beitrag zur Chemie der Muskeln. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. III. — Ueber das Serumalbumin in den Muskeln. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. IV.

2) Ueber die Abhängigkeit der Contractionsart der Muskeln von den Mengenverhältnissen einiger Bestandtheile. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. VII.

3) Fischmuskelplasma enthält überdies noch das oben beschriebene Myoproteid.

schon bei 30—40° gerinnt, durch Salzfällung und Diffusion unter ähnlichen Bedingungen ausfällt, wie das Paramyosinogen und nachweisbar aus dem Myosinogen entsteht, besonders rasch bei höherer Temperatur und bei Anwesenheit von bestimmten Salzen: das lösliche Myogenfibrin. Sowohl das Paramyosinogen, als auch dieses lösliche Myogenfibrin gehen ausserordentlich leicht in fibrinähnliche, schwer lösliche Modificationen über. Diese Umwandlung kann sich unter geeigneten, künstlich herstellbaren Bedingungen allmählich auf 70—80 Proc. des Gesamteiweiss erstrecken; sie erfolgt in der ersten Zeit auf Kosten beider Eiweisskörper, später, wenn das Paramyosinogen verbraucht ist, auf Kosten des Myosinogens.

Es erübrigt nunmehr, die mitgetheilten Thatsachen mit den älteren Angaben der Autoren zu vergleichen und die zum Theil neu eingeführten Bezeichnungen zu begründen. Es ist dabei unvermeidlich, von dem widerspruchsvollen Kapitel der „Myosingerinnung“ auszugehen, und die ganz verschiedene Bedeutung, welche dem Ausdrucke „Myosin“ unterlegt worden ist, näher zu berücksichtigen. Es ist gut, bei der Deutung der beobachteten Vorgänge von allen Beziehungen der Spontangerinnung der Muskeleiweissstoffe zur Todtenstarre und von der Analogie derselben mit der Blutgerinnung abzusehen, da gerade Verallgemeinerungen nach dieser Richtung die jetzt in dieser Sache herrschende Unklarheit herbeigeführt haben.

Ferner sei vorläufig bemerkt, dass die von früheren Autoren gegebene Charakteristik der Muskeleiweisskörper nur zum kleinsten Theile auf der Untersuchung isolirter Substanzen, zumeist nur auf Untersuchung von mehr oder minder mit anderen Eiweissstoffen verunreinigten Lösungen beruhte. Eine Isolirung und Reinigung durch wiederholtes Fälln mit Salzen, wie sie Hammarsten mit solchem Nutzen bei Untersuchung der Eiweissstoffe des Blutplasmas benutzte, ebenso die Isolirung durch wiederholte Dialyse scheint bisher in systematischer Weise nicht durchgeführt worden zu sein.¹⁾

Ein solches umständliches Vorgehen ist aber unerlässlich, da sonst die Trennung der Eiweisskörper eine höchst unvollständige bleibt. Ein Eiweissniederschlag schliesst, wenn er aus einer Lösung gefällt wird, die noch andere Eiweisskörper enthält, stets solche in erheblichen Mengen ein. Durch Auswaschen lassen sich diese gar nicht diffusiblen Beimengungen nicht beseitigen; sind ja aus einem Eiweissgerinnsel schon leicht diffusible

1) Diese Verfahren sind freilich stets mit grossen Verlusten verbunden, erfordern daher für jeden einzelnen Versuch grosse Mengen Ausgangsmaterial und wegen der geringen Haltbarkeit der betreffenden Stoffe, einen Massenverbrauch von Versuchsthieren.

Stoffe, z. B. Zucker, erfahrungsgemäss nur sehr schwer durch Waschen auszuziehen. Eine Anzahl Angaben über die Eiweisskörper des Muskelplasmas werden in der That nur durch die Annahme verständlich, dass die Trennung derselben von einander eine ganz unvollständige geblieben ist.

Kühne's Myosin.

Als es Kühne im Laufe seiner grundlegenden Arbeiten gelungen war, mit Hilfe seines Kälteverfahrens sehr concentrirtes syrupöses Muskelplasma in unverändertem Zustande zu gewinnen, fiel es ihm auf, dass diese Flüssigkeit die Eigenschaft besass, spontan zu gerinnen, und zwar erfolgte diese Gerinnung sehr langsam bei 0°, in unmessbar kurzer Zeit dagegen bei 40°, auf eine Glasfläche getropft, gerann sie sofort zu einer Lamelle, auch durch Schlagen mit einem Glasstabe ward die Coagulation beschleunigt; durch Verdünnung mit Wasser, durch Zusatz einer Säure wurde sie momentan bewirkt. Liess Kühne sein Plasma mittelst einer Glasröhre in concentrirte Natriumchloridlösung sinken, so entstand ein geronnener Faden, welcher sich jedoch alsbald auflöste, das auf die eine oder andere Art entstandene Gerinnsel nannte Kühne „Myosin“ und stellte demselben das Muskelserum gegenüber, gerade so, wie dem Fibrin das Blutsrum gegenübersteht.

Um das Myosin rein darzustellen, liess Kühne Plasma in destillirtes Wasser eintropfen; war es concentrirt, so bildeten sich feste elastische Kugeln; war es dagegen verdünnt, so entstand ein feinflockiger Niederschlag. Das Gerinnsel wurde durch Waschen mit Wasser gereinigt.

Das so dargestellte Myosin zeigte folgende Eigenschaften:

Es ist ganz unlöslich in Wasser, sehr leicht löslich in Chlornatriumlösung von 5—10 Proc., in verdünnten Säuren und Alkalien. Es zersetzt, gleich dem Fibrin, Wasserstoffsperoxyd. — Eine Lösung des Myosins in 10 proc. Natriumchloridlösung wird durch Verdünnen mit Wasser, durch verdünnte Säuren, sowie durch Natriumchlorid in Substanz gefällt. Sie gerinnt nicht spontan, bei 55° beginnt sie sich zu trüben, bei 60° entsteht ein Coagulum von der gewöhnlichen Beschaffenheit in der Hitze geronnener Eiweisskörper. Eine Lösung von Myosin in 1 proc. Natriumchloridlösung giebt bei längerem Stehen im geheizten Zimmer feine Flocken.

Kühne stellte weiter das Myosin auch aus totenstarren Muskeln dar, indem er dieselben mit 10 proc. Kochsalzlösung extrahirte. Er erhielt eine Flüssigkeit, die nie spontan coagulirte. In Wasser getropft habe dieselbe harte Coagula gebildet. Man erhalte auf diese Weise sogleich sehr reines Myosin.

Kühne nimmt an, das bei der Todtenstarre bereits geronnene Myosin werde durch 10 proc. Natriumchloridlösung aus den Muskeln extrahirt. Wenn man die lösende Kraft des Natriumchlorids durch Verdünnung schwächt, komme es wieder zur Gerinnung.

Kühne fasst somit unter Myosin Folgendes zusammen.

- a) Den Niederschlag, welcher beim Verdünnen des Plasmas, bez. beim Eintropfen desselben in Wasser entsteht.

b) Jenes Gerinnsel, welches sich spontan im Plasma, bei 0° langsam, bei 40° augenblicklich, abscheidet und dessen Entstehung durch mechanische Mittel (Auftropfen auf eine Glasplatte, Schlagen mit einem Stabe) beschleunigt wird.

c) Die im Plasma durch Säuren bewirkte Fällung.

Was zunächst a) betrifft, so ist dies das eigentliche Myosin; ich sage dies aus dem Grunde, weil Kühne in einer viel späteren (1889) gemeinsam mit Chittenden ausgeführten Arbeit über die Zusammensetzung des Myosins das Ausfallen beim Verdünnen und bei der Diffusion als die typische Eigenschaft des Myosins hervorhebt. Dieser Körper ist, nach Darstellung und Eigenschaften, nichts anderes als Paramyosinogen.

Ich darf folgenden scheinbaren Widerspruch nicht übergehen: Kühne sagt, eine Lösung von a) in 10 proc. Kochsalzlösung beginne sich bei 55° zu trüben und gebe bei 60° einen Niederschlag. Dies ist aber nicht die Coagulationstemperatur des Paramyosinogens, sondern vielmehr die des Myosinogens.

Ich glaube, dieser Widerspruch dürfte sich folgendermaassen aufklären:

Das Myosinogen haftet dem Paramyosinogenniederschlag sehr fest an. Durch Waschen lässt es sich nicht beseitigen. Nun besitzt aber jeder Paramyosinogenniederschlag in hohem Grade die Tendenz, als Myosinfibrin auszufallen. Wenn man also den, im Plasma durch Verdünnung entstandenen Niederschlag in Natriumchlorid aufzulösen sucht, kann es geschehen, dass inzwischen alles Paramyosinogen unlöslich geworden ist, derart, dass die Lösung nichts Anderes, als die Verunreinigung, i. e. das Myosinogen enthält und somit dessen Gerinnungspunkt aufweist.

Was die Form der Myosinabscheidung betrifft, bemerke ich, dass ich niemals Gelegenheit hatte, die festen Coagula, die Kühne beim Eintropfen seines, aus Frostmuskeln dargestellten, syrupdicken Plasmas in Wasser sah, zu beobachten. Ich sah nur Bildung eines zumeist flockigen, bei der Diffusion auch eines klumpigen Niederschlages; doch ist zu bedenken, dass meine Lösungen nie so concentrirt waren, als jene, die von Kühne unter Einhaltung ganz besonderer Bedingungen aus Frostmuskeln gewonnen wurden.

Bei b) handelt es sich um das Ausfallen des fibrinähnlichen Eiweisskörpers, welcher durch Umwandlung des im Froschplasma präformirten löslichen Myogenfibrins in der Kälte langsam, bei 40° aber momentan entsteht. Ich kann der Darstellung Kühne's nicht entnehmen, dass es ihm gelungen wäre, den Niederschlag, der sich in der Kälte oder bei 40° spontan abgeschieden hatte, in Salzen zu lösen.

c) Die Säurefällung betrifft das Myosinogen und das Paramyosinogen, welche beide mit Säuren Niederschläge geben.

Bezüglich des Muskelsersums wurde bereits eingangs erwähnt, dass Kühne in demselben 3 Körper unterschied: 1. Eine bei 45° gerinnende Substanz, 2. Kalialbuminat, 3. Albumin.

Davon entspricht 1 dem Paramyosinogen, 2 dem Myosinogen, 3 ist Serumalbumin.

Einige Autoren, die sich auf Basis der Arbeiten Kühne's mit der Untersuchung des Myosins beschäftigten, gebrauchten die Bezeichnung „Myosin“ im Sinne Kühne's; so Weyl¹⁾, Chittenden und dessen Mitarbeiter Whitehouse²⁾, Goodwin³⁾ und Wyckoff Cummins.⁴⁾

Chittenden und Cummins extrahirten das Fleisch verschiedener Säugethiere mit 5—10 proc. Ammoniumchloridlösung; die Lösung wurde durch Sättigen mit Natrium- oder Ammoniumchlorid gefällt, der Niederschlag in wenig Wasser gelöst. Die Lösung wurde durch Dialyse oder durch Verdünnen mit Wasser gefällt.

Zur Untersuchung des Coagulationspunktes wurde das Myosin in 5 proc. Natriumchlorid- oder in 5 proc. Ammoniumchloridlösung gelöst.

Die Lösungen in Ammoniumchlorid gaben einen Niederschlag bei 44—48°; die in Natriumchlorid dagegen eine Fällung in den Grenzen 52—63°. Die Zahlen der Ammoniumchloridlösungen entsprechen also dem Paramyosinogen, diejenigen der Natriumchloridsolutionen dagegen dem Myosinogen.

Ich kann mir diesen Widerspruch abermals nur in der Weise erklären, dass ich annehme, in letzterem Falle sei das Paramyosinogen vor der Lösung in Natriumchlorid durch Umwandlung in Myosinfibrin unlöslich geworden, derart, dass nur das Myosinogen, welches dem Paramyosinogenniederschlag fest anhaftet, in Lösung ging.

Das Myosin Danilewsky's.⁵⁾ Danilewsky gebrauchte die Bezeichnung „Myosin“ für zwei heterogene Producte:

1. für das feine Gerinnsel, welches erhalten ward, wenn ausge-

1) Beiträge zur Kenntniss thierischer und pflanzlicher Eiweissstoffe. Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. I. 1877—1878.

2) On some metallic compounds of albumin and myosin. Studies from the laboratory of physiol. chemistry. Yale University II. New Haven 1887.

3) Myosinpepton. Journ. of physiology. Sheffield biological laboratory. Yale University 1891.

4) The nature and composition of the myosin of muscle tissue. Studies from the laboratory of physiol. chemistry. Yale University. III. 1889.

5) Myosin, seine Darstellung. Umwandlung in Syntonin und Rückbildung aus demselben. Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. V. 1881. — Catherine Schipiloff und A. Danilewsky, Ueber die Natur der anisotropen Substanzen des quergestreiften Muskels und ihre räumliche Vertheilung im Muskelbündel. Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. V. 1881. — A. Danilewsky, Ueber die Abhängigkeit der Contractionsart der Muskeln von den Mengenverhältnissen einiger Bestandtheile. Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. VII. 1882—1883.

laugtes Fleisch mit 12—15 Proc. Ammoniumchlorid extrahirt und die Lösung in ein hohes Gefäss mit Wasser getropft wurde.

Es handelte sich hier also im Wesentlichen um Paramyosinogen, doch erhebt das Präparat nicht Anspruch darauf, als rein angesehen zu werden, da Danilewsky ausdrücklich hervorhebt, es sei nur mit sehr wenig Wasser abgespült worden. Es wird auch angeführt, die Salmiaklösung des Myosins habe zwischen 40—55° coagulirt. Je concentrirter die Lösung, desto niedriger fand sich die Gerinnungstemperatur; d. h. eiweissreiche Lösungen zeigten den Coagulationspunkt des Paramyosinogens, eiweissarme den des Myosinogens. Die Erklärung dieses Verhaltens ist dieselbe, wie jene, die ich oben für das Myosin von Chittenden und Cummins gegeben habe.

2. Die Muskeln wurden mit 10—15 proc. Ammoniumchloridlösung erschöpft und die Extractflüssigkeiten $\frac{1}{4}$ Stunde lang auf 60—65° erhitzt. Der Autor nimmt an, es scheide sich dabei sämmtliches Myosin in Flocken ab. Das Myosin, von dem hier die Rede ist, entspricht offenbar der Summe von Paramyosinogen (coagulirt bei 47°) mehr dem Myosinogen (coagulirt bei 55—65°).

Die Myosintheorie Halliburton's. Halliburton gelangte zu folgenden Vorstellungen über das Wesen der Gerinnungsvorgänge im Muskel:

Das Muskelplasma besitzt, gerade so wie das Blutplasma, die Eigenschaft spontan zu gerinnen. Das Gerinnsel, welches dem Fibrin analog ist, wird als Myosin bezeichnet. Das vom Myosin befreite Muskelplasma heisst Muskelserum (entsprechend dem Blutserum). Gerade so wie sich im Blutplasma eine Muttersubstanz des Fibrins, das Fibrinogen findet, begegnet man im Muskelplasma der Muttersubstanz des Myosins, dem Myosinogen; ausserdem kommt darin noch eine zweite, minder wesentliche Muttersubstanz, das Paramyosinogen vor. Durch das Zusammentreten des Myosinogens und des Paramyosinogens entsteht das Myosin. Das Myosin lässt sich wieder in seine Muttersubstanzen dissociiren; man braucht es zu diesem Zwecke nur in einer Neutralsalzlösung aufzulösen. Wenn man frische Muskeln mit stärkeren Salzlösungen extrahirt, gelangt man direct zu den präformirten Muttersubstanzen des Myosins. In einem todttenstarren Muskel sind dagegen Myosinogen und Paramyosinogen nicht mehr als solche vorhanden. Dieselben haben sich vielmehr zum Myosingerinnsel vereinigt, welches eben die Todtenstarre hervorbringt. Würde man die starren Muskeln etwa mit Wasser extrahiren, so könnte man nur das Muskelserum gewinnen. Anders aber, wenn man sich einer starken Neutralsalzlösung (z. B. Magnesiumsulfat 5 Proc., Natriumchlorid 10 Proc. oder Natriumsulfat halbgesättigt) bedient. Der Salzlösung gelingt es, das geronnene Myosin wieder in Lösung zu bringen und es dabei wieder in seine beiden Muttersubstanzen, das Myosinogen und das Paramyosinogen zu dissociiren.

Wird nun eine solche Lösung mit Wasser verdünnt und derart das Salz seiner lösenden Kraft beraubt, so können sich die Muttersubstanzen wieder zum Myosingerinnsel vereinigen und das Myosin, welches bereits einmal im totenstarren Muskel geronnen war, gerinnt nunmehr zum zweiten Male: es erfolgt Recoagulation. Salze haben also das Vermögen, die Gerinnung des Muskelsaftes, gerade so wie des Blutes zu verhindern.

Ein anderes Agens, durch das man die lösende Kraft des Salzes in gleicher Weise überwinden kann, wie durch Verdünnung mit Wasser ist das Myosinferment, welches nach demselben Verfahren aus dem Muskel hergestellt wird, wie das Fibrinferment aus dem Blute. Auch durch Myosinferment kann man eine Salzlösung des Myosins zur Coagulation bringen. Die Myosingerinnung ist also eine echte Fermentgerinnung.

Bei der Darstellung des Myosin verfuhr Halliburton in verschiedener Weise:

a) Salzplasma aus Muskeln wurde durch Verdünnung mit Wasser ausgefällt („coagulirt“), das „Coagulum“ gewaschen, sodann durch Zusatz von Natriumchlorid oder Magnesiumsulfat gelöst, die Lösung durch Verdünnung „recoagulirt“ und dieser Vorgang eventuell so lange wiederholt, bis die Flüssigkeit, welche das Gerinnsel ausstösst, sich als nahezu eiweissfrei erweist.

b) Salzplasma wird mit Magnesiumsulfat gesättigt, der Niederschlag 3—4 mal mit saturirter Magnesiumsulfatlösung gewaschen, dann mit soviel Wasser versetzt, dass die Lösung 5 Proc. Magnesiumsulfat enthält. Man erhält so eine Lösung, welche nach 2—4 Stunden bei 18—35° nicht gerinnt, nach Zusatz von Myosinferment nach 4 Stunden bei 35° gerinnt.

c) Salzplasma wird 6fach mit Wasser verdünnt und 1—2 Stunden lang bei 35° erhalten. Es entsteht ein „Myosingerinnsel“, dasselbe wird von der Flüssigkeit, dem „Muskelserum“ abgetrennt, mit Wasser gewaschen, sodann in Magnesiumsulfatlösung von 5 Proc. gelöst. Die Lösung besteht aus einem Gemenge von Myosinogen und Paramyosinogen. Das Muskelserum enthält weder Myosinogen, noch Paramyosinogen, sondern nur ein Gemenge von Myoglobulin, Albumin und Albumose.

Für das dargestellte Myosin giebt Halliburton folgende Charakteristik:

Myosin wird aus seinen Salzlösungen durch Verdünnen mit viel Wasser gefällt; es ist leicht löslich in Neutralsalzlösungen; es wird aus diesen Lösungen durch Sättigung mit Natriumchlorid, Magnesiumsulfat und Ammoniumsulfat gefällt. Es ist sonach ein Globulin. Durch langes

Waschen verliert das Myosin seine Löslichkeit in Neutralsalzen. Zusatz von Calciumchlorid macht es wieder löslich.

Wird eine neutrale Myosinlösung in 5proc. Natriumchloridlösung mit dem 2—3fachen Volumen Wasser verdünnt, so gerinnt dieselbe. Es findet zunächst eine Gallertbildung in der ganzen Flüssigkeit statt, dann zieht sich das Coagulum zusammen und presst eine klare Flüssigkeit aus. Der Process verläuft bei Körpertemperatur sehr rasch und wird durch Zusatz von Myosinferment beschleunigt.

ad a) Es kann wohl bei unbefangener Beurtheilung keinem Zweifel unterliegen, dass das Myosin a) identisch ist mit dem durch Verdünnen fällbaren Globulin des Plasmas, dem Paramyosinogen Halliburton's und dem Myosin Kühne's. Das was hier als Coagulation und Recoagulation geschildert wird, ist nichts Anderes als Wiederholung der Globulinfällung. Uebrigens hat Halliburton die Globulinnatur dieses Myosins ganz richtig erkannt.

ad b) Das Myosin b) ist ein Gemenge von Paramyosinogen und Myosinogen. Ersteres wird durch Magnesiumsulfat vollständig, Letzteres unvollständig gefällt. Wir entnehmen aus Halliburton's obiger Angabe, dass „Myosinferment“ bei 35° die Eigenschaft hat, die Abscheidung von Muskelfibrinen aus Paramyosinogen und Myosinogen zu fördern. Da nach meiner Erfahrung viele indifferente Salze dasselbe thun, ist diese Beobachtung nicht sehr auffällig; inwiefern dabei ein als Ferment charakterisirter Körper mitspielt, bleibt noch zu untersuchen.

ad c) Das Myosin c) vermochte ich in der von Halliburton angegebenen Weise überhaupt nicht darzustellen.

Ich erhielt bei genauer Befolgung seiner Vorschrift zwar durch Verdünnung des mit 10proc. Natriumchloridlösung hergestellten Plasma aufs 6fache und Erwärmen auf 35° ein gelatinöses Gerinnsel, welches sich zusammenballte und in der klaren Flüssigkeit schwamm, welches aber, wenn es ausgewaschen wurde, sich in 5proc. Magnesiumsulfatlösung gar nicht löste, in concentrirter Essigsäure und Natriumcarbonat nur quoll, somit der Definition des Myosins nicht entsprach.

In einem anderen Versuche brachte ich das bei 35—40° erhaltene Gerinnsel, ohne vorheriges Waschen in 15proc. Ammoniumchloridlösung. Ich konnte nicht bemerken, dass auch nur ein Theil des Gerinnsels sich gelöst hätte. Die Flüssigkeit enthielt selbstverständlich kleine Mengen Paramyosinogen und Myosinogen, die dem Gerinnsel angehaftet hatten.

In einem dritten Versuche ergab sich, dass das mit 0,5proc. Chlornatriumlösung gewaschene Gerinnsel, wie in Magnesiumsulfatlösung von 5 Proc., so auch in Natriumchloridlösung von 10 Proc. unlöslich war.

Die betreffende Angabe bezieht sich, soweit ersichtlich, auf die bei 35° in einem salzhaltigen Plasma stets und ziemlich schnell erfolgende Abscheidung der beiden Muskelfibrine aus Myosinogen und

Paramyosinogen. Eine Regeneration der letztgenannten Körper aus einmal geronnenem Eiweiss ist selbstverständlich nicht zu erzielen.

Auch kann ich nicht zugeben, dass im „Muskelserum“ nur noch Myoglobulin, Albumin und Albumose in Lösung bleiben. Wie aus früher Gesagtem hervorgeht, bleiben nach zweistündigem Erhitzen auf 35° merkliche Mengen von Paramyosinogen und sehr erhebliche Mengen von Myosinogen ungefällt zurück. Allerdings imponirt das bei 35° erhaltene Gerinnsel gerade so, wie das Fibrin durch sein Volumen. Doch klärt die Waage leicht über den Sachverhalt auf.

Wie aus der eben gegebenen Darstellung hervorgeht, hat die von Kühne herrührende Bezeichnung Myosin im Laufe der Zeit mannigfache unzutreffende Deutungen erfahren; es geht aber auch daraus hervor, dass das Paramyosinogen Halliburton's nichts Anderes als Myosin in dem ursprünglichen Sinne, d. h. das in Salzen lösliche, aus diesen durch Verdünnung ausfällbare und mit grosser Neigung zur Umwandlung in eine unlösliche Modification begabte Globulin des Muskelplasmas ist.

Es empfiehlt sich daher die Bezeichnung Myosin als die ältere und kürzere beizubehalten.

Der zweite und besonders reichlich im Muskelplasma vorhandene Eiweisskörper, das Myosinogen Halliburton's, entspricht insofern seinem Namen nicht, als derselbe weder jemals echtes Myosin liefert, noch daraus entsteht. Um aber die Continuität der Bezeichnung zu wahren, empfiehlt es sich, sie nicht ganz fallen zu lassen, sondern in einer Weise zu kürzen, die auf den von ihrem verdienstvollen Autor gewählten Namen zurückweist. Ich schlage dafür die Abkürzung Myogen vor. Die im Texte für die fibrinähnlichen Abkömmlinge gewählten Bezeichnungen Myosinfibrin und Myogenfibrin sind dann ohne Weiteres verständlich.

Die spontane Gerinnung des Muskelplasmas vollzieht sich so nach nach folgendem Schema:

Myosin



Myosinfibrin

Myogen



Lösliches Myogenfibrin

Myogenfibrin.

Prag, im Juli 1895.