

Konstitution und Wirkung einiger Häminproteide

Autor(en): **Theorell, Hugo**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern**

Band (Jahr): **1 (1944)**

PDF erstellt am: **16.05.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-319417>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Hugo Theorell, Stockholm

Konstitution und Wirkung einiger Häminproteide

(Vortrag

gehalten in der Berner Chemischen Gesellschaft
am 1. Juni 1943)

Unter Häminproteiden sind Verbindungen zu verstehen, die aus einem Eisenporphyrin und einem Eiweisskörper bestehen. Streng genommen, darf als Hämin nur das Chlorsalz eines Eisenporphyrins betrachtet werden. Bei der Verbindung mit Eiweiss tritt aber das Chlor heraus, so dass also in den Proteiden eigentlich kein Hämin mehr vorhanden ist. Trotzdem sind wir bei dem Namen „Häminprotein“ geblieben, nicht nur weil es kurz ist, sondern auch aus einem weiteren Grunde. Einige Häminproteide, wie das Hämoglobin oder die Meerrettichperoxidase, lassen sich reversibel in eine Farbstoffgruppe plus Eiweiss zerlegen. Das ursprüngliche Häminprotein lässt sich in solchen Fällen regenerieren, wenn man gerade das Chlorhäm in Lauge löst und dann die Eiweisskomponente hinzufügt.

In der Natur gibt es viele verschiedene Häminproteide, wie z. B. die Hämoglobine, die Cytochrome, die Katalasen und die Peroxydasen, die sich in ihrer Wirkungsweise und sonstigen Eigenschaften voneinander stark unterscheiden. Wir haben uns in Stockholm die Aufgabe gestellt, möglichst viele Häminproteide rein darzustellen, um dann mit verschiedenen Analysemethoden zu untersuchen, ob sich die Konstitution der Häminproteide so weit aufklären lässt, dass man auf Grund chemischer Tatsachen zum Verständnis der physiologischen Wirkungsweise derselben gelangen könnte.

Bevor ich auf diese Fragen zurückkomme, möchte ich einige historische Tatsachen erwähnen.

1. Lecanu entdeckte im Jahre 1827, dass das Hämoglobin Eisen enthält. In den folgenden Jahrzehnten wurden viele Eisen-

analysen des Hämoglobins ausgeführt, die indessen etwas zu hohe Werte ergaben. Der richtige Wert 0,34 % wurde zuerst von den Mitarbeitern Bunes in Basel, Zinoffsky (1895) und Jaquet (1889) angegeben.

Vor genau hundert Jahren, also 1843, stellte Justus von Liebig die Theorie auf, dass der Blutfarbstoff, den er als die einzige Eisenverbindung im Körper betrachtete, das Verbrennungsferment des Körpers wäre. Freilich hat er diese Theorie bald wieder verlassen, aber sie enthielt doch, wie wir jetzt wissen, einen Kern von Wahrheit insofern, als all die Verbrennungs- oder Atmungsfermente, die hier besprochen werden sollen, mit dem Hämoglobin nahe verwandt sind. In der Tat spielt sich die Wirkung dieser Fermente gerade am Eisenatom ab.

Hoppe-Seyler entdeckte 1862 die Absorptionsbanden des Oxyhämoglobins im Spektroskop. Die Spektralanalyse der Hämoglobinderivate und später der übrigen Häminproteide hat sich seitdem zu einer Methode von fundamentaler Bedeutung für die hier in Frage stehenden Probleme entwickelt.

Man kann es wohl verstehen, wenn auch nicht verzeihen, dass Hoppe-Seyler, erfüllt von Freude über seine Entdeckung aller dieser schönen Absorptionsbanden der Hämoglobinderivate, die Befunde anderer Forscher auf diesem Gebiete nicht so gern anerkennen wollte. Ich denke dann an den bekannten Streit von Hoppe-Seyler und seinem Schüler Levy gegen Mac Munn. Dieser hervorragende Experimentator veröffentlichte 1886—1889 einige Arbeiten über „Myo“- und „Histohämatine“, Substanzen, die er mit Hilfe einer höchst verfeinerten mikrospektroskopischen Technik in den verschiedensten biologischen Objekten wahrnehmen konnte. Er zeigte, wie die Banden unter anaeroben Verhältnissen voll erschienen, und wie sie durch Zufuhr von Sauerstoff zum Verschwinden gebracht werden konnten. Aus diesen und vielen anderen Versuchen zog er den, wie wir jetzt wissen, richtigen Schluss, dass die Histohämatine bei der biologischen Verbrennung mitwirken. Hoppe-Seyler und Levy bestritten die Richtigkeit der Mac Munn'schen Ergebnisse. Die Autorität Hoppe-Seylers war so gross, dass Mac Munn's Arbeiten fast in Vergessenheit gerieten. 1925 konnte aber Keilin die Existenz der Histohämatine vollkommen bestätigen und vertiefte in einer Reihe von Arbeiten unsere Kenntnisse über die Histohäma-

tine (oder Cytochrome nach Keilin) sehr erheblich. Ein Cytochrom, „c“, ist bisher rein dargestellt worden (Theorell, 1935, 1939), wodurch die Konstitutionsanalyse dieses Cytochroms gewissermassen ermöglicht wurde. Die sogenannten a- und b-Cytochrome können wahrscheinlich nicht in reiner Form dargestellt werden, da sie an die Zellstruktur verankert sind.

Die rotgefärbten Muskeln der Säugetiere und der Vögel verdanken ihre Farbe einem Stoff, der Absorptionsbanden gibt, welche denjenigen des Hämoglobins sehr ähnlich sind. Dieses Muskelhämoglobin oder Myoglobin wurde früher bald als identisch, bald als nicht identisch mit dem Hämoglobin angesehen. K. A. H. Mörner vertrat die letztere Ansicht, da er 1897 kleine, aber sichere Unterschiede bezüglich der Lage der Absorptionsbanden im Vergleich mit dem Hämoglobin feststellte, und für die rote Muskelsubstanz den Namen Myochrom vorschlug. Kennedy und Whipple gehörten noch 1926 zu denen, die das Muskelhämoglobin als mit dem Hämoglobin identisch ansahen. 1932 wurde die Frage entschieden durch die Reinkristallisation des Myoglobins (Theorell). Es zeigte sich dann, dass nicht nur die Absorptionsbanden anders als beim Hämoglobin lagen, sondern, dass auch das Molekulargewicht und die Affinität zum Sauerstoff ganz andere Werte als für Hämoglobin aufwiesen. Diese Verhältnisse sind für unser heutiges Thema von Bedeutung, und wir werden später darauf zurückkommen.

Die Aufklärung des chemischen Mechanismus der Zellatmung haben wir vornehmlich Otto Warburg zu verdanken. Er hatte 1914 mit den systematischen Untersuchungen über die oxydationskatalytische Wirkung des Eisens begonnen. Zwar hatten Mathews und Walker, sowie Thunberg schon 1909 die katalytische Rolle des Eisens bei der Autoxydation des Cysteins bzw. Lecithins nachgewiesen, aber sie haben dieses Thema nicht weiter verfolgt. Warburg's Untersuchung über die atmungssteigernde Wirkung des Eisens beim Seeigel sowie seine Untersuchungen über die katalytische Wirkung der eisenhaltigen Blutkohle auf die Oxydation der Aminosäuren können als Vorstudien zu den wichtigen Entdeckungen von 1926 bis 1933 betrachtet werden: Warburg und dessen Mitarbeiter wiesen dann nach, dass das sogenannte „Atmungsferment“ ein Häminproteid ist, dessen Absorptionsspektrum sie auf einem indirekten Wege bestimmen konn-

ten. In geeigneten Geweben oder Zellsuspensionen wurde nämlich die Sauerstoffaufnahme durch Kohlenoxyd gehemmt; die Hemmung konnte durch Bestrahlung mit Licht mehr oder weniger aufgehoben werden. Monochromatisches Licht von verschiedenen Wellenlängen hatte dabei verschiedene Wirkung. Aus den experimentellen Ergebnissen konnte die Lichtabsorptionskurve des Atmungsferments berechnet werden, und die Lage und Höhe der Absorptionsbanden zeigten unzweideutig, dass das Ferment ein vom Bluthämin verschiedenes Hämin ist und ausserdem noch einen Eiweisskörper enthält. Dieses Hämin ist mit dem in den Borstentwürmern auftretenden „Spirographishämin“ nahe verwandt.

2. Die Geschichte der Katalasen ist fast ebensoalt wie diejenige des Wasserstoffsperoxyds. Th en a r d, der Entdecker des Wasserstoffsperoxyds, fand im Jahre 1818, dass Blutfibrin den Wasserstoffsperoxyd zu Sauerstoff und Wasser spaltet. Auch andere Tier- und Pflanzengewebe wirken in derselben Weise. Schönbein führte in den sechziger Jahren des vorigen Jahrhunderts viele Experimente über die katalytische H_2O_2 -Spaltung durch, die nach von Euler und Zeile „sich allerdings mehr durch die Originalität der experimentellen Behandlung des Gebietes als durch die kritische Beurteilung der Tatsachen auszeichnen“. Er machte indessen eine wichtige Feststellung, die viel später wesentlich dazu beitrug, die Natur der Katalasen als Häminproteide sicherzustellen. Es war dies die Hemmung der Katalasewirkung durch Blausäure. Die unrichtige Auffassung Schönbeins, nach welcher die Katalasewirkung eine allgemeine Fermentwirkung der lebenden Gewebe wäre, blieb bis Ende des neunzehnten Jahrhunderts vorherrschend. R a u d n i t z (1899) und Oskar Löw bewiesen dann, dass die Katalasen besondere und abgrenzbare Fermente sind. 1930 stellten Zeile und Hellström in von Eulers Institut fest, dass die Leberkatalase ein Protohäminproteid ist. Dies war ein entscheidender Fortschritt. Stern kristallisierte Protohämin aus Katalase und fand, dass die Leberkatalase ausserdem einen grünen Farbstoff enthielt, der von L e m b e r g als Biliverdin erkannt wurde. Sumner und Dounce (1937) erhielten die Kuhleberkatalase in Krystallform. Agner stellte 1938 bei uns in Stockholm die Pferdeleberkatalase in reiner Form dar, wobei es sich in überraschender Weise zeigte, dass die Aktivität der Pferdeleberkatalase etwa

doppelt so gross wie diejenige der Kuhleberkatalase war. Die Biliverdinkomponente hat offenbar keine Bedeutung für die Katalasewirkung. Agner stellte neulich die Katalase aus Erythrocytenkatalase in reiner Form dar. Sie enthält kein Biliverdin, aber die Wirkung ist noch grösser als bei der biliverdinhaltigen Leberkatalase. Bemerkenswerterweise enthalten nach Agner die weissen Blutkörperchen keine Katalase. Die Katalasewirkung des Blutes stammt ausschliesslich von den roten Blutkörperchen.

Die Wirkung der Peroxydasen besteht darin, dass sie Wasserstoffsperoxyd nicht so wie die Katalasen spalten, sondern derart aktivieren, dass eine Reihe von Stoffen oxydiert werden können, besonders Polyphenole. Schönbein fand 1855 beim Arbeiten mit Ozon und Peroxyden in der tierischen und pflanzlichen Welt Fermente, die gleich wie Ferrosalze das Wasserstoffsperoxyd gegen Guajacollösung aktivierten. Schönbein hielt die Peroxydasen für identisch mit den Katalasen. Dieser Irrtum wurde von Raunitz und von Löw 45 Jahre später richtiggestellt. Im Pflanzenreich sind die Peroxydasen anscheinend ganz generell verbreitet, im Tierreich kommen sie dagegen spärlicher vor. Es war darum natürlich, dass die ersten Reinigungsversuche einer Peroxydase mit einem Pflanzenmaterial angestellt wurden, und zwar von Willstätter und seinen Mitarbeitern. Leider kam dieser hochverdiente Forscher in diesem Falle zu sehr irrümlichen Ergebnissen. Das Ferment sollte weder Eiweiss noch Kohlehydrat enthalten, und das wenige Eisen, das gefunden wurde, sollte ohne Bedeutung für die Wirkung sein. Kuhn, Hand und Florin (1931) und mit mehr überzeugenden Gründen Keilin und Mann (1937) kamen zum Ergebnis, dass die pflanzliche Peroxydase aus Meerrettich ein Häminprotein ist, das heisst mit anderen Worten: die Wirkung findet am Eisenatom statt und das Ferment enthält Eiweiss. Nachdem wir 1941 das Ferment rein-kristallisiert hatten, stellte sich heraus, dass es noch etwas Kohlehydrat enthält.

Amerikanische Forscher, Hogness und Mitarbeiter, haben eine Peroxydase in der Hefe entdeckt, die insofern eigentümlich ist, dass sie vorzugsweise auf reduziertes Cytochrom c wirkt. Sie ist also im Gegensatz zu den früher bekannten Pflanzenperoxydasen eine Cytochromperoxydase. Die prosthetische Gruppe ist indessen dieselbe, also Protohämin.

Agner stellte die erste tierische Peroxydase, die sogenannte „Verdoperoxydase“ aus Eiter dar. Es zeigt sich bald, dass die neue Verdoperoxydase gerade das Ferment war, das die seit 1868 (Klebs) bekannte Blaufärbung der Guajactinktur durch Eiter bewirkte. Die Verdoperoxydase ist grünlich gefärbt, während die Meerrettichperoxydase braun gefärbt ist. Der Unterschied kommt daher, dass die Verdoperoxydase ein von Protohämin verschiedenes, noch unbekanntes Hämin enthält. Es sei nebenbei bemerkt, dass die Verdoperoxydase von Agner ganz merkwürdig stabil ist. Es sei beispielsweise erwähnt, dass Agner eine aktive Verdoperoxydase in chloroleukämischen Infiltraten fand, die seit 27 Jahren in der formalinhaltigen Fixierungsflüssigkeit Kayserlings aufbewahrt gewesen waren.

In letzter Zeit haben wir die Peroxydase aus der Milch rein-kristallisiert. Sie ist auch grünlich gefärbt und sollte also ebenfalls als eine Verdoperoxydase bezeichnet werden. Sie enthält ein anderes Hämin als die Agner'sche Peroxydase. Der Eisen-gehalt ist in den beiden Fermenten ungefähr gleich. Da die beiden einzigen bis jetzt bekannten tierischen Peroxydasen grünlich sind, kann man sich ja denken, dass vielleicht alle tierischen Peroxydasen sich als grünlich gefärbt erweisen werden. Die „grünen“ Hämine spielen offenbar eine grössere Rolle als man früher dachte, wo Warburgs Atmungsferment das einzige bekannte, grüne Häminproteid war.

* * *

Präparative Methoden zur Reinigung der Häminproteide.

Wir verwenden bei der Darstellung der Häminproteide natürlich viele verschiedene Methoden. Jeder dieser Reinigungsschritte gründet sich auf wohlbekannte Tatsachen, die in der Proteinchemie schon lange zur Verwendung kamen, z. B. die fraktionierte Fällung mit Ammoniumsulfat, eventuell bei verschiedenen pH-Werten, Denaturieren von Begleitproteinen durch Erwärmung, fraktionierte Fällung mit organischen Lösungsmitteln, vor allem Alkohol oder Azeton, Fällung mit Schwermetallsalzen, z. B. Bleiazetat usw. Die verschiedenen Adsorptionsmethoden haben wir bei diesen Arbeiten fast niemals nützlich gefunden. Dagegen ist es uns kaum jemals gelungen, ohne die Elektrophorese

zum Ziel zu kommen. Die Elektrophorese ist sicher zur Zeit unser bestes Hilfsmittel für die Trennung von Proteingemischen. Nur muss man daran denken, dass es sich nicht lohnt, mit allzu unreinen Präparaten Elektrophoreseversuche anzustellen. Im allgemeinen beginnen wir mit der Elektrophorese, erst wenn die Präparate 1 bis 10 % reines Ferment enthalten.

Die verschiedenen Ausgangsmaterialien enthalten, ja immer wenig von den Häminfermenten. Wenn man 1 g reines Ferment aus 100 kg Ausgangsmaterial bekommt, ist es schon nicht schlecht. So liegt z. B. die Ausbeute bei der Meerrettichperoxydase. Bei der Milchperoxydase ist die Ausbeute um eine Zehnerpotenz niedriger; von Cytochrom c kann man etwa 3 g aus 100 kg Herzfleisch rein bekommen. Von den Leberkatalasen bekommt man 100—200 g aus 100 kg Leber. Die allergrösste relative Ausbeute bekam indessen A g n e r bei der Darstellung der Verdoperoxydase aus Leukocyten, deren Gehalt an Verdoperoxydase nicht weniger als 1 % von der Trockensubstanz beträgt. In diesem Fall ist ja leider das Ausgangsmaterial, der Eiter, unmöglich in grossen Mengen zu haben.

Viele verschiedene Untersuchungsmethoden werden dann an den verschiedenen Fermenten verwendet. Das Ziel unserer Untersuchungen war die Bindungsart des Eisens und des ganzen Hämins im Proteidkomplex festzustellen, weil wir meinen, dass die Kenntnis dieser Verhältnisse eine Voraussetzung für die Aufklärung der Fermentfunktion ist. Es seien einige von diesen Methoden kurz erwähnt. Fast jede Aenderung der Ladung oder der Bindungsform des Eisens ist mit einer Aenderung des Absorptionsspektrums verbunden. So kommt es, dass die lichtelektrische Absorptionmessung bei verschiedenen pH-Werten, bei verschiedenen Ladungszuständen des Eisens und nach Anlagerung verschiedener Komplexbildner, wie Co, HCN, Fluorid usw. wertvolle Aufschlüsse geben kann. Weiter können Titrierkurven zeigen, wie sich dem Eisen benachbarte Gruppen durch die Aenderung der Bindungsform oder des Ladungszustands des Eisens hinsichtlich ihrer Dissoziation ändern. Aehnliche Schlüsse kann man aus den Messungen des Redoxpotentials ziehen. Magnetometrische Messungen ergeben, ob das Eisen ionisch oder covalent gebunden ist. Es wird wohl nicht vielen Lesern geläufig sein, was für nützliche Kenntnisse derartige Messungen bringen können. Etwas später

werde ich deswegen ein Beispiel ihrer praktischer Verwendung zeigen. Die magnetischen Messungen gründen sich auf der Tatsache, dass ionisch gebundenes Eisen mehrere unpaarige Elektrone enthält, während das covalent gebundene Eisen entweder kein (Ferroform) oder ein (Ferriform) enthält. Die unpaarigen Elektrone geben je nach ihrer Anzahl ein paramagnetisches Moment, d. h. ein Molekül, das Atome mit unpaarigen Elektronen enthält, wird in einem inhomogenen magnetischen Feld zum Zentrum herangezogen.

Praktisch werden die Messungen nach unserer Mikromethode folgendermassen ausgeführt. Die zu untersuchende Lösung wird in die eine Hälfte eines in der Mitte durch eine Scheidewand unterteilte Röhre angefüllt. In die andere Hälfte gibt man das Lösungsmittel, z. B. Wasser. Die Röhre ist in einem starken magnetischen Feld horizontal an meterlangen Haaren aufgehängt, so dass die Scheidewand genau im Zentrum des Feldes kommt und die freien Enden der Röhre so weit herausreichen, dass die Feldstärke an den Enden nur klein ist. Beim Einschalten des Elektromagnets macht die Röhre eine kleine horizontale Bewegung nach ihrer Längsachse, die im Mikroskop abgelesen wird. Der Apparat wird mit bekannten Eisensalzlösungen geeicht.

Die Aminosäureanalysen beanspruchen deswegen Interesse, weil, soweit man bis jetzt gesehen hat, in den Häminproteiden das Eisen ausser mit den Pyrrolkernen des Porphyrins auch mit den der Eiweisskomponente angehörenden Aminosäuren verbunden ist. Angesichts der schweren Zugänglichkeit grösserer Mengen der Häminproteide waren wir gezwungen, in Mikroskala zu arbeiten. Dabei hat uns eine elektrodialytische Methode wertvolle Dienste geleistet. Sie ermöglicht es, eine Menge von nur 20—25 mg Proteinsubstanz zu hydrolysieren und im Hydrolysat mittels der Elektrodialyse den Amidstickstoff, die basischen, die neutralen und die sauren Aminosäuren voneinander scharf zu trennen. Die basische Fraktion wird kolorimetrisch auf Arginin und Histidin analysiert. Lysin wird als Stickstoffdifferenz berechnet. Die neutralen und basischen Fraktionen können natürlich auch kolorimetrisch oder anderswie analysiert werden. Es mag erwähnt werden, dass wir bis jetzt bei den bisher analysierten Häminproteiden immer die Bergmann-Niemansche Frequenztheorie bestätigen konnten. Die Zahl der gesamten sowie der einzelnen Aminosäuren liess sich also innerhalb der Fehlergrenzen durch die Zahl $2^m \times 3^n$ ausdrücken.

Wirkungsmechanismus der Häminproteide

Die Häminproteide können auf drei prinzipiell verschiedene Arten reagieren.

1. Das Eisen bleibt bei der physiologischen Funktion zweiwertig. Beispiel: Die reversible Gasanlagerung beim Hämoglobin oder Myoglobin. $\text{Fe}^{**} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{Fe}^{**} \text{O}_2$.

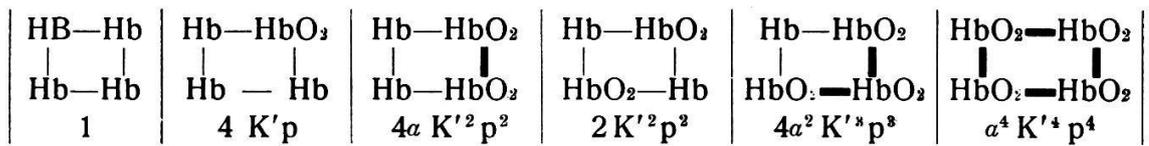
2. Das Eisen schwingt physiologisch zwischen zwei- und dreiwertig, so dass ein Elektron immer wieder aufgenommen und nach anderer Seite hin weitergegeben wird. Beispiel: Cytochrom c: $\text{Fe}^{***} + e \rightleftharpoons \text{Fe}^{**}$.

3. Das Eisen bleibt physiologisch immer dreiwertig. Wasserstoffsuperoxyd wird angelagert und entweder gespalten (Katalasen) oder zu oxydativen Funktionen aktiviert (Peroxydasen).

Betreffs der Katalasen herrscht noch gewisse Unstimmigkeit. Keilin und Hartree meinen, dass das Katalaseeisen zwischen zwei- und dreiwertig schwingt, was aber mehrere Verfasser, zu denen wir uns zählen, nicht bestätigen konnten.

Hämoglobin und Myoglobin

Jedes Hämoglobinmolekül enthält bekanntlich vier Moleküle Hämin. Diese vier Hämine könnten a priori im Verhältnis zueinander jede Lage im Molekül einnehmen. Pauling hat die Frage nach der Anordnung der Hämingruppen im Molekül theoretisch angegriffen. Von den verschiedenen denkbaren Anordnungen (a) jedes Hämin einzeln ohne Einwirkung des einen auf die anderen; b) zwei Gruppen mit je zwei Häminen; c) Einwirkung jeder Hämingruppe auf alle andere, so dass sie entweder in den Ecken eines Tetraeders oder in den Ecken eines Quadrats sitzen) ist nach Pauling die quadratische Anordnung diejenige, die sich mit den experimentellen Tatsachen am besten vereinigen lässt. Die untenstehende Zusammenstellung zeigt die verschiedenen Möglichkeiten, nach der sich der Sauerstoff mit dem Hämoglobin verbinden kann. Die dicken Striche sollen eine gegenseitige Beeinflussung („interaction“) andeuten, welche durch den Faktor α in Rechnung getragen wird. K' ist eine von der Energieänderung durch die Anlagerung von Sauerstoff an eine einzelne Hämingruppe abhängige Funktion, und p ist der Sauerstoffpartialdruck.



Für den Sättigungsgrad des Hämoglobins mit Sauerstoff, y , erhielt Pauling aus diesen Ueberlegungen die folgende Formel:

$$y = \frac{K' p + (2\alpha + 1) K'^2 p^2 + 3\alpha^2 K'^3 p^3 + \alpha^4 K'^4 p^4}{1 + 4 K' p + (4\alpha + 2) K'^2 p^2 + 4\alpha^2 K'^3 p^3 + \alpha^4 K'^4 p^4}$$

Aus dieser etwas komplizierten Formel konnte nun die ganze Sauerstoffgleichgewichtskurve berechnet werden, nachdem die bestimmenden Werte für die Konstanten α und K' herausprobiert waren. In der Abbildung 1 ist die ganze gezogene Kurve nach Paulings Formel berechnet, während die einzelnen Punkte von Experimenten früherer Autoren stammen. Die schöne Uebereinstimmung zwischen Theorie und Experiment scheint ja für die Richtigkeit der Pauling'schen Anschauungsweise stark zu sprechen. Die S-förmige Krümmung der Kurve ist physiologisch ausserordentlich wichtig, weil im mittleren, steilen Teil der Kurve eine geringfügige Aenderung des Sauerstoffdrucks genügt, um grosse Aenderungen des Sättigungsgrads des Hämoglobins mit Sauerstoff hervorzurufen. Diese Form der Kurve ist also einfach durch die Polymerisierung zu vierfachen Molekülen bedingt.

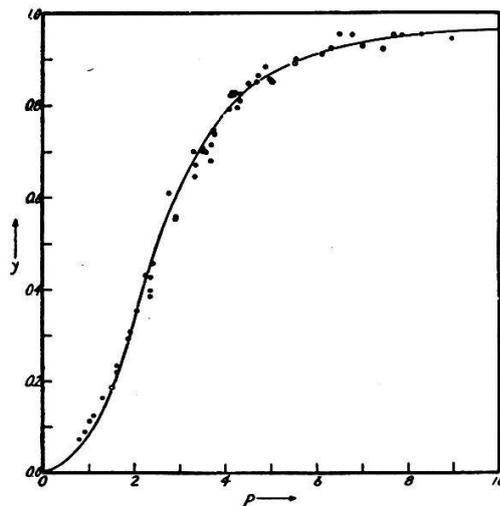


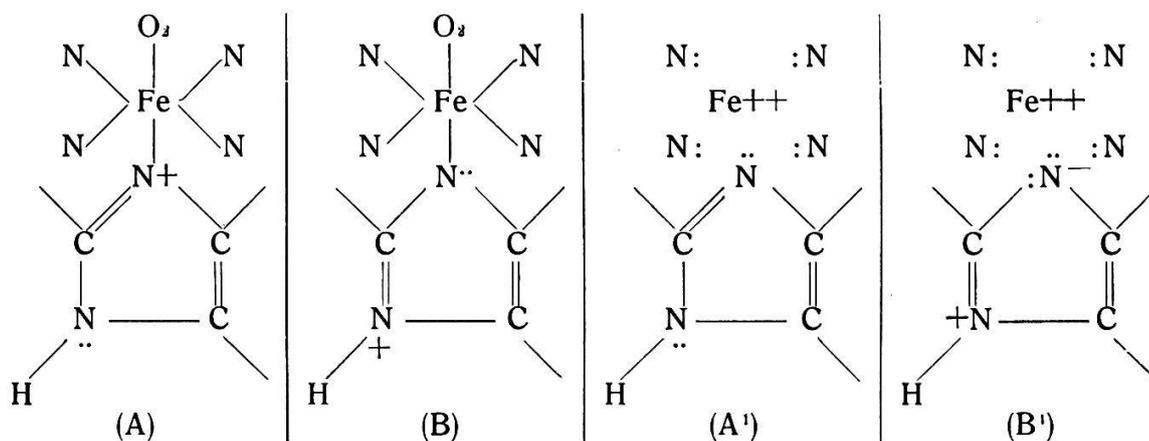
Abb. 1.

Sauerstoffgleichgewichtskurve des Hämoglobins bei pH 8.30 nach Pauling.
Kurve theoretisch, Punkte experimentell.

Das Myoglobin enthält nur 1 Fe pro Molekül vom Gewicht = $\frac{1}{4}$ von demjenigen des Hämoglobins. Demzufolge weist die Sauerstoffgleichgewichtskurve keine S-förmige Krümmung auf, sondern ist gemäss der Theorie hyperbolisch:

$$K = \frac{p(1-y)}{y}, \text{ wo } \begin{array}{l} K = \text{Gleichgewichtskonstante,} \\ p = \text{Sauerstoffdruck und} \\ y = \text{Sättigungsgrad mit Sauerstoff.} \end{array}$$

Noch eine weitere wichtige Eigenschaft des Hämoglobins lässt sich, wie Pauling und Coryell gezeigt haben, rein strukturchemisch erklären. Das Oxyhämoglobin ist bekanntlich etwas saurer als das Hämoglobin. Das venöse Blut vermag demgemäss mehr Kohlensäure zu binden als das arterielle, was für den Wegtransport der Kohlensäure aus den Geweben wichtig ist. Im Hämoglobin ist das Eisen mit Imidazolresten von Histidin verknüpft (Conant, Wyman). Die magnetischen Messungen von Pauling und Mitarbeiter haben gezeigt, dass das Eisen im Hämoglobin ionisch, im Oxyhämoglobin dagegen covalent gebunden ist. Nach Pauling und Coryell kann man demgemäss die Struktur der nächsten Umgebung des Eisens in folgender Weise formulieren:



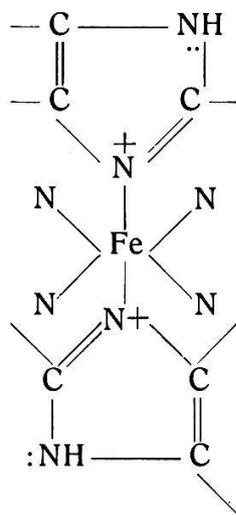
Im Oxyhämoglobin sind die beiden Formen A und B gleich wahrscheinlich, d. h. diese beiden miteinander resonierenden Formen tragen mit je 50 % zum normalen Gleichgewichtszustand bei. Betrachtet man das Stickstoffatom links unten, so bildet es in A eine Iminogruppe, die nur wenig Neigung zur Abspaltung eines Protons besitzt, d. h. die Dissoziationskonstante liegt ziemlich hoch im alkalischen Gebiet. In der Form B dagegen er-

scheint dasselbe Stickstoffatom in der Form einer Pyridiniumgruppe, die erwartungsgemäss ein pK von etwa 5 aufweisen muss. Wenn nun A und B miteinander resonieren, so resultiert eine Dissoziationskonstante, die in der Nähe des Neutralpunkts liegt. Anders beim Hämoglobin, wo die Bindung des Eisens ionisch ist. Hier ist die Form A' viel stabiler und also wahrscheinlicher als die Form B' mit getrennten Ladungen. Hier überwiegt also die Iminoform des betreffenden Stickstoffatoms und die Dissoziationskonstante ist demgemäss mehr nach der basischen Seite hin verschoben. Das Angeführte scheint mir ein schönes Beispiel für die Wichtigkeit der magnetischen Messungen auf dem Gebiete der Häminproteide zu sein.

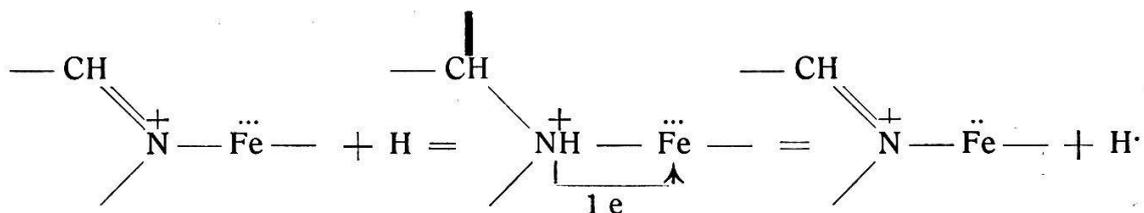
Die zweite Reaktionsweise, wobei das Eisen zwischen den zwei- und dreiwertigen Stufen schwingt, finden wir bei den Cytochromen. Die physiologische Funktion derselben besteht darin, dass sie als eine Transportkette für einen Strom von Elektronen dienen. Wasserstoff wird vom Substrat der Zellatmung abgespalten und auf gewisse Fermente z. B. Pyridin- oder Flavinproteide übertragen. Der Wasserstoff gibt nun weiter ein Elektron an ein dreiwertiges Eisenatom eines Cytochroms ab, wobei das Wasserstoffatom in ein Wasserstoffion übergeht, das in die Lösung wandert. Das Eisen wird dabei zur Ferrostufe reduziert. Dann springt das Elektron weiter von einem Cytochrom zum anderen, um schliesslich mit Hilfe des Warburg'schen Atmungsferments als ein Sauerstoffmolekül abgeliefert zu werden. In dieser Weise werden Sauerstoffionen gebildet. Wenn bei der Verbrennung in der Zelle Wasser gebildet wird, so entstehen also die Wasserstoff-, bzw. Sauerstoffionen an den beiden Enden einer Häminproteidkette, die den Elektronenaustausch vermittelt.

Ein Cytochrom soll also, um für seine besondere Aufgabe zu passen, so konstruiert sein, dass es Elektronen aufnehmen und abgeben kann. Dagegen soll es keine Verbindungen mit Gasen, wie Sauerstoff, in der Ferrostufe, mit Wasserstoffsperoxyd in der dreiwertigen Stufe geben. Wenn die Cytochrome solche Verbindungen geben würden, so könnte die physiologische Funktion dadurch nur gehemmt, aber nicht gefördert werden. Bisher war es nur möglich, das Cytochrom c näher zu studieren. Das Ergebnis unserer Untersuchungen über die Konstitution des reinen

Cytochroms c war, dass das Eisenatom darin auf beiden Seiten der flachen Häminscheibe mit Imidazolkernen fest verbunden ist.



Da nun also alle sechs Koordinationstellen des Eisens mit Stickstoffatomen verbunden sind, so ist es ohne weiteres verständlich, dass weder Sauerstoff oder Kohlenmonoxyd, Cyanid oder Fluorid usw. sich mit dem Eisen verbinden können. Die Konstitution erklärt also, warum die erste und dritte Reaktionsweise ausgeschlossen sind. Man kann sich dann weiter fragen, wie es kommt, dass das Eisen überhaupt mit Wasserstoff z. B. aus einer Leukoflavinverbindung reagieren kann. Wir stellen uns vor, dass hier ein ganz besonderer Mechanismus vorliegt.



Diese Reaktionsformel kann in folgender Weise gedeutet werden. Der Wasserstoff wird zunächst an einen der Imidizolkerne angelagert. Dabei entsteht unter Auflösung einer Doppelbindung eine Radikalverbindung mit einer freien Valenz. Ein Elektron springt dann vom Stickstoffatom zum dreiwertigen Eisen über, was dank der covalenten Stickstoff-Eisen-Verbindung leicht vor sich gehen muss. Ein Proton wird abgespalten und die Doppelbindung wieder angeknüpft. Im Cytochrom c würde also eine ähnliche Reaktion stattfinden, wie bei der Bildung der Mono-

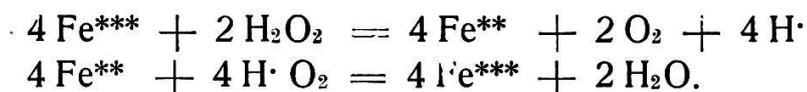
hydroradikale der Flavinproteide (Michaelis' „onestep reaction“). Es ist gewissermassen überraschend, dass man also den Reaktionsmechanismus der wasserstoffübertragenden Fermente (Pyridin- und Flavinproteide) bei einem Häminprotein wiederfindet. Es ist natürlich schwierig, experimentelle Beweise für diese Theorie zu liefern. Es sei aber hervorgehoben, dass das Cytochrom c das einzige bisher bekannte Häminprotein ist, das sich durch Platin und Wasserstoff von der Ferri- zur Ferrostufe glatt reduzieren lässt.

Bei der dritten Reaktionsweise bleibt das Eisenatom physiologisch immer dreiwertig. Das Wasserstoffsperoxyd wird vom dreiwertigen Hämeisen gebunden, wobei zwei verschiedene Möglichkeiten vorhanden sind: entweder zerfällt die $\text{Fe-H}_2\text{O}_2$ -Verbindung in $\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Ferment}$, wie bei den Katalasen; oder es wird ein Substrat durch die $\text{Fe-H}_2\text{O}_2$ -Verbindung oxidiert, wie bei den Peroxydasen.

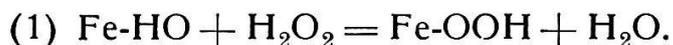
Die physiologische Wirkung der Katalasen besteht wohl jedenfalls hauptsächlich in der Spaltung des H_2O_2 . Man kann sich ja fragen, woher das Wasserstoffsperoxyd stammt und ob es überhaupt Wasserstoffsperoxyd in den Zellen gibt, obwohl man es niemals in aeroben Zellen hat direkt nachweisen können. Jedenfalls muss bei vielen verschiedenen Reaktionen in den Zellen die Möglichkeit einer Wasserstoffbildung gegeben sein, wie z. B. bei der Oxydation von Leukoflavinverbindungen oder von Ascorbinsäure. Das Wasserstoffsperoxyd ist ein starkes Zellgift, das u. a. auf verschiedene Häminproteide zerstörend wirkt. Das Hämoglobin und das Cytochrom c sind z. B. sehr empfindlich gegen Wasserstoffsperoxyd. Sogar die Peroxydasen, die physiologisch mit H_2O_2 zusammenwirken, werden schon von sehr mässigen Konzentrationen H_2O_2 verdorben. Es ist also sicher kein Zufall, dass die roten Blutkörperchen viel Katalase enthalten um das Hämoglobin zu schützen. Die Leber enthält ja auch viel Katalase, vielleicht weil sie grosse Mengen von Flavinfermenten aufweist, die bei der Autooxydation durch Sauerstoff H_2O_2 bilden können.

Es ist noch nicht genau bekannt, wie die Katalasen das Wasserstoffsperoxyd spalten. Keilin und Hartree gaben eine Formel für diesen Mechanismus an, nach welcher das Wasser-

stoffsuperoxyd das dreiwertige Katalaseeisen reduzieren soll, wonach dann der Sauerstoff das Ferroeisen reoxydieren würde.



Die Theorie von Keilin und Hartree gründete sich zum wesentlichen Teil auf Ergebnissen manometrischer Messungen der Sauerstoffentwicklung im System Katalase + H_2O_2 . Diese Autoren fanden, dass unter streng anaeroben Verhältnissen kein Sauerstoff entwickelt wurde. Mehrere Verfasser konnten indessen diese anaerobe Hemmung der Katalasewirkung nicht bestätigen. Keilin und Hartree meinten dagegen, dass diese Verfasser zu unreine Präparate und im übrigen ungeeignete Versuchsbedingungen verwendet hatten. Wir prüften die Sache mit Agner's reinkristallisiertem Präparat nach, das mehrfach so rein wie Keilin's und Hartree's Präparat war. Wir bekamen dabei gewaltig schwankende Werte, aber ebensooft war die Sauerstoffentwicklung anaerob grösser als aerob und umgekehrt. Die Ausschläge waren durchschnittlich, pro Katalaseeisen berechnet, ungefähr ebenso gross wie diejenigen von Keilin und Hartree. Es liess sich aber berechnen, dass nach der mittels Permanganattitrierung ermittelten Aktivität des Präparates die Ausschläge in den manometrischen Versuchen noch viel grösser hätten sein müssen. Dies schien uns anzuzeigen, dass die manometrische Methode für die Bestimmung der Katalaseaktivität überhaupt schlecht geeignet ist — eine Tatsache, die übrigens schon früher längst bekannt war. Keilin und Hartree deuteten die rote Verbindung der Katalase mit Azid + H_2O_2 als eine zweiwertige Häminverbindung, wonach also die Fähigkeit des Wasserstoffsuperoxyds, das Katalasehämin zu reduzieren als bewiesen angesehen wurde. Es schien uns dagegen, dass die Spektralbanden dieser Verbindung eher auf dreiwertiges Eisen hindeuten, und unsere magnetischen Messungen erbrachten eine Stütze dieser Auffassung. Wir glauben also, dass das Eisen in der Katalase die ganze Zeit dreiwertig bleibt und schliessen uns der Reaktionsformel an, die Sumner auf Basis älterer Theorien von Haber, von Euler, und Liebermann angibt.



Wir wissen noch nicht, wie das Katalaseeisen mit dem Eiweiss verbunden ist. Man kann also über die Bedingungen der speziellen Katalasewirkung noch nichts aussagen.

Die Peroxydasen wirken dadurch, dass sich H_2O_2 mit dem Hämineisen verbindet, wonach die H_2O_2 -Verbindung geeignete Substrate oxydieren kann, wie Hydrochinon, Pyrogallol und andere Polyphenole, weiter Jodide, Nitrite u. a. Die Cytochromperoxydase aus Hefe von H o g n e s s und Mitarbeiter scheint ausnahmsweise ziemlich spezifisch auf Cytochrom c als Substrat eingestellt zu sein. Meistens muss man sich wohl vorstellen, dass die mit Hilfe der Peroxydasen oxydierten Polyphenole als Zwischenkatalysatoren dienen, d. h. das Chinon wird von aktivierten Nährstoffen reduziert, von Peroxydase + H_2O_2 reoxydiert. Bei dieser Reaktionsweise bleibt das Peroxydaseeisen die ganze Zeit dreiwertig. Die Reaktion wird dann z. B. gar nicht durch Kohlenmonoxyd gehemmt, das sich ja nur mit Ferrohäminen verbindet. Es gibt aber einen Sonderfall, wo die Peroxydasen als Oxydasen wirken. Bringt man eine Peroxydase mit Dioxymaleinsäure zusammen, so wird Sauerstoff aufgenommen und die Dioxymaleinsäure wird oxydiert. Hier braucht man kein Wasserstoffsperoxyd zuzugeben, denn er wird im Oxydationsgemisch gebildet und irgendwie wieder verbraucht. Die Anwesenheit dieser kleinen Mengen von Wasserstoffsperoxyd ist aber für die Sauerstoffaufnahme notwendig. Entfernt man das Wasserstoffsperoxyd durch Zugabe von Katalase, so hört die Sauerstoffaufnahme auf. Sie kann nun in diesem einzigen Falle durch Kohlenmonoxyd gehemmt werden, und die Hemmung wird durch Licht wieder aufgehoben. Dieses Verhalten ist für Ferrohäminverbindungen typisch. Es waren gerade solche Versuche, die W a r b u r g zur Bestimmung des Absorptionsspektrums des Atmungsferments anstellte. Die Abbildung 2 zeigt, wie die Peroxydasewirkung in 90 % CO im Dunkeln stark gehemmt wird, im Licht dagegen viel weniger.

Wir sind bei der Aufklärung des chemischen Mechanismus der Peroxydasewirkung etwas weiter gekommen als bei der Katalasewirkung. Dies beruht vor allem darauf, dass wir in der Meerrettichperoxydase ein günstiges Untersuchungsobjekt fanden, das sich in Protohäm in und farbloses Eiweiss reversibel spalten liess. Die Meerrettichperoxydase ist auch verhältnismässig resistent, z. B. gegen saure und alkalische Reaktionen. Sie ist dem Häm-

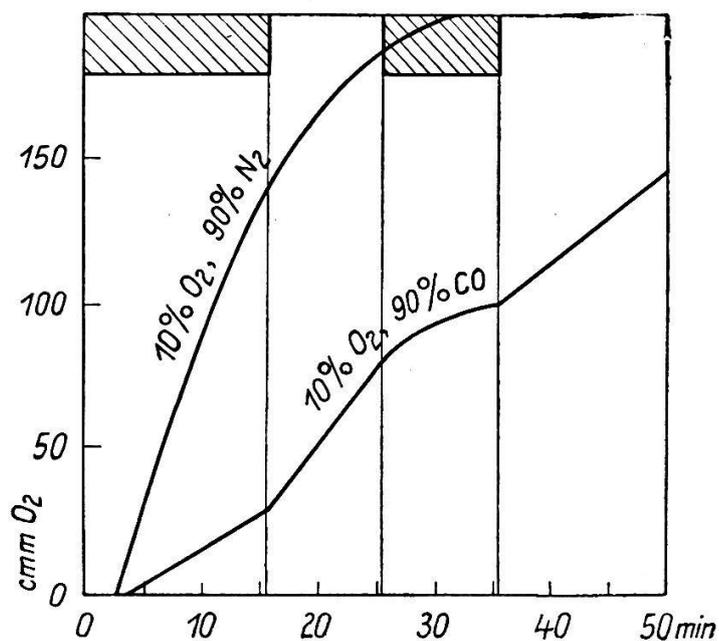


Abb. 2.

CO-Hemmung der Peryxodasewirkung auf Dioxymaleinsäure im Licht und im Dunkel.

globin betrifft Farbe und Spektralbanden so ähnlich, dass man sie mit Hilfe des Spektroskops kaum unterscheiden kann. Beide enthalten Protohäm als prosthetische Gruppe. Wie kommt es dann, dass das eine Präparat eine Peroxydase ist, das andere nicht?

Es ist nicht möglich, in einem Vortrag alle Einzelheiten der Untersuchungen zu beschreiben, die bis zu einem gewissen Grade diese Frage aufgeklärt hatten. Vielleicht ist es doch angebracht, ganz kurz darüber etwas zu sagen, weil dadurch wenigstens ein Einblick in die für solche Untersuchungen zur Verfügung stehenden Möglichkeiten vermittelt wird. Abbildung 3 zeigt ein Paar Titrierkurven von Methämoglobin (untere Kurve) und Hämoglobin (x). Die obere Kurve ist theoretisch berechnet auf Grund der von Pauling und Coryell angegebenen Werte für die „heme-linked groups“.

Die gute Übereinstimmung zwischen den gefundenen und berechneten Werten illustriert die Verwendbarkeit der Titrationsmethode für die Ermittlung der Dissoziationskonstanten der häm-gebundenen Gruppen. Ähnliche Versuche wurden nun mit der Meerrettichperoxydase angestellt. Die Abbildung 4 zeigt die Titrationskurve der Ferroperoxydase (ausgezogen) und der CO-Ferroperoxydase (x).

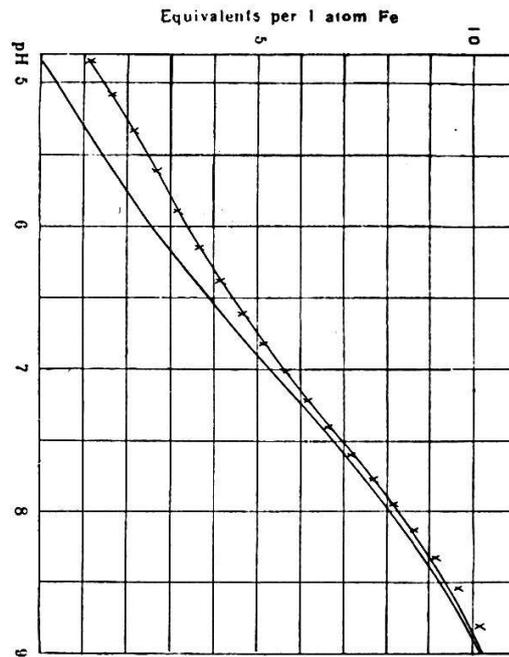


Abb. 3.

Titrationen von Methämoglobin (unten) und Hämoglobin (x). Die ausgezogene, obere Kurve ist theoretisch berechnet unter der Voraussetzung $pK_{\text{Ferro}} = 5.2$ und 7.8 ; $pK_{\text{Ferri}} = 5.45, 6.5, 8.1$.

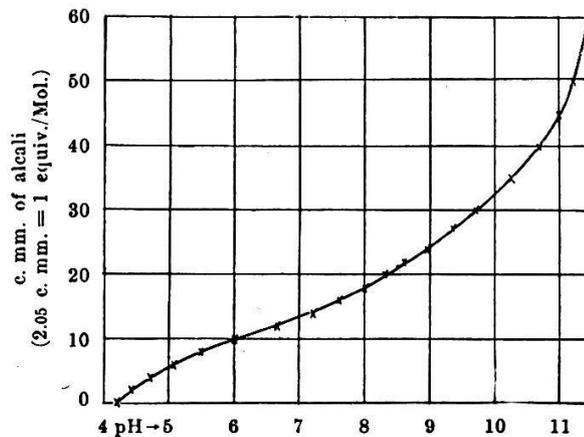


Abb. 4.

Titrationen der Ferropoxydase (—) und der CO-Ferropoxydase (x).

Die vollkommene Uebereinstimmung zwischen den Kurven mit und ohne CO zeigt, dass bei der Peroxydase die Aenderung der Bindungsart des Eisens von ionisch (Ferro-P. O.) zu covalent (CO-Ferro-P. O.) im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Hämoglobin (vgl. oben) keine Verschiebung der Dissoziationskonstanten herbeigeführt hat. Das Peroxydaseeisen kann also nicht an Imidazolgruppen gebunden sein.

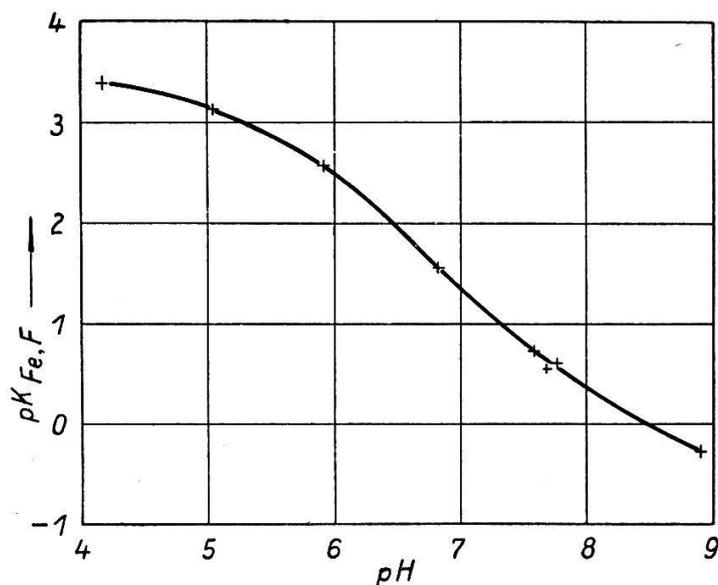


Abb. 5.

Abhängigkeit der $pK_{Fe, F}$ in der Meerrettichperoxydase vom pH.

Die Peroxydase gibt eine Verbindung mit dem Fluorid-Ion, das sich mit dem Eisen verbindet. Die Dissoziationskonstante dieser Verbindung variiert mit dem pH (s. Abb. 5). Dies könnte möglicherweise so erklärt werden, dass F' mit OH' um eine Verbindungsstelle des Eisens konkurrieren. Gewisse Tatsachen, auf die ich hier nicht näher eingehen kann, sprechen aber gegen diese Deutung.

Bei der Anlagerung von $1 CN'$ pro $1 Fe$ schlägt die ionische Bindung in die covalente um (s. Abb. 6). In dieser Hinsicht verhält sich die Peroxydase gleich wie das Methämoglobin. Bei der Titrierung mit Lauge verhalten sich dagegen das Methämoglobin und die Peroxydase sehr verschieden (s. Abb. 7).

In der alkalischen Peroxydase ($P. O.-OH$) ist das Eisen covalent gebunden, hat also ein unpaariges Elektron. Das $pK_{Fe, OH}$ ist etwa 11. Im alkalischen Methämoglobin ist das Eisen mit einer intermediären Bindungsart gebunden und hat drei unpaarige Elektronen. Das $pK_{Fe, OH}$ ist etwa 8. Die kleine Abnahme der magnetischen Suszeptibilität von pH 6,5 nach der sauren Seite hin ist nach Pauling und Coryell durch die Titration einer hämingebundenen Imidazolgruppe bedingt. Bei der Peroxydase fehlt diese Erscheinung, weil das Eisen darin nicht an Imidazol gebunden ist.

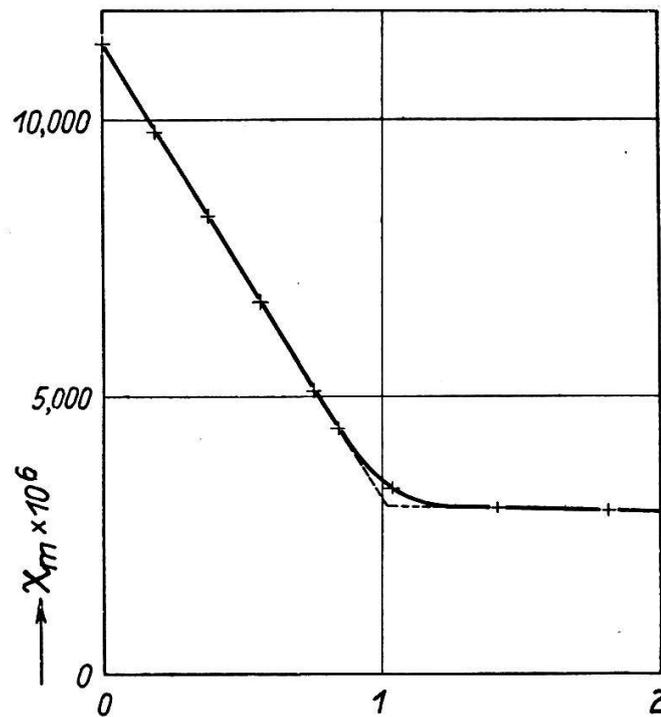


Abb. 6.

Magnetometrische Titrierung der Peroxydase mit HCN.

Die Meerrettichperoxydase lässt sich durch Behandlung mit salzsaurem Azeton in der Kälte zu Hämin und farblosem Eiweiss spalten. Löst man das Eiweiss in Bicarbonat, so erhält man eine inaktive Lösung. Gibt man dann Protohämin zu, so koppelt sich das Hämin wieder zum Eiweiss, wobei die Absorptionsbanden und die Wirkung zurückkehren. Ein Ueberschuss von Hämin steigert die Wirkung nicht über die ursprüngliche hinaus. Es wurde nun

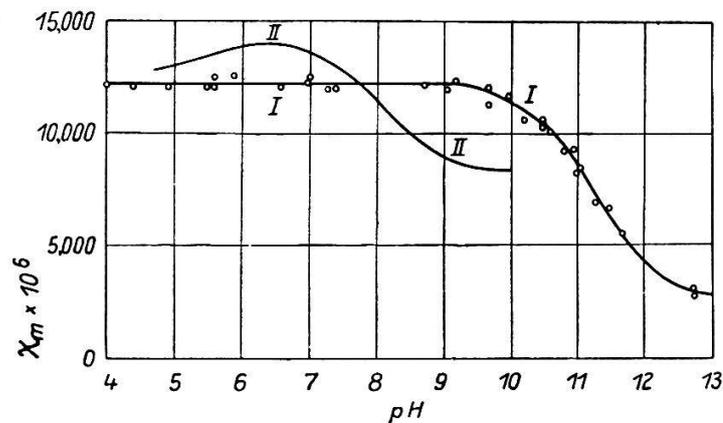


Abb. 7.

Magnetische Suszeptibilität der Peroxydase (I) (Theorell) und des Methämoglobins (II) (Pauling und Mitarbeiter) bei variiertem pH.

eine Reihe von mehr oder weniger nahe verwandten Häminen in dieser Weise geprüft (s. Abb. 8 und 9).

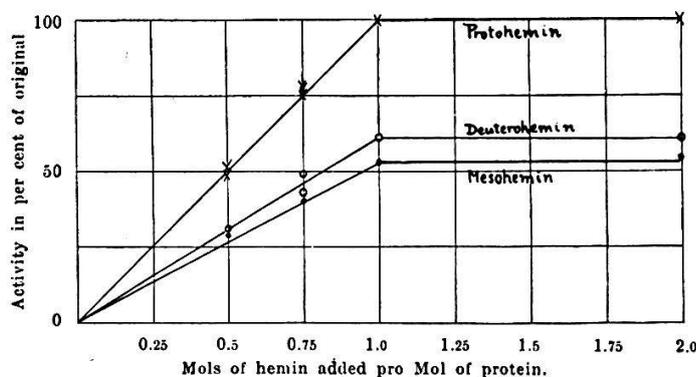


Abb. 8.

Kopplung von Peroxydaseeiweiss mit Proto-, Meso- und Deuterohämin.
Ein Molekül von jedem koppelt mit einem Molekül Protein.

Die geprüften Hämine sind in der Abbildung 9 zusammengestellt. Nur Proto-, Meso- und Deuterohämin wirkten, alle übrigen nicht.

Die Vinylgruppen des Protohämins können also entfernt (Deutero-) oder mit Wasserstoff gesättigt (Meso-) werden, ohne dass die Wirkung erlischt. Dagegen verschwindet die Wirkung, wenn Sauerstoff in die Vinylgruppen eingeführt wird (Hämato-). Jede bisher geprüfte Veränderung in den Propionylgruppen (s. Abb. 9) brachte die Wirkung zum Verschwinden.

Die reversible Spaltung der Peroxydase ermöglichte gewisse Titrierversuche, die zur Aufklärung der Natur der Bindung „Hämin—Eiweiss“ in der Peroxydase wesentlich beitrugen. Es war ja nämlich möglich, teils das freie Eiweiss, teils die daraus durch Kopplung mit Hämin erhaltene Peroxydase zu titrieren. Aus der Differenz der beiden Kurven wurde geschlossen, dass das Peroxydaseeisen mit einer Carboxylgruppe der Eiweisskomponente verbunden ist. Die Propionylgruppen des Hämins scheinen mit positiv geladenen Gruppen des Eiweisses salzartig verbunden zu sein. Vielleicht handelt es sich um eine Amino- und eine Guanidino-Gruppe.

Die Spezifität der Kopplung zwischen Hämin und Peroxydase-eiweiss unter Bildung von aktiver Peroxydase ist nach diesen Ergebnissen leicht zu begreifen, da ja nicht weniger als drei Haft-

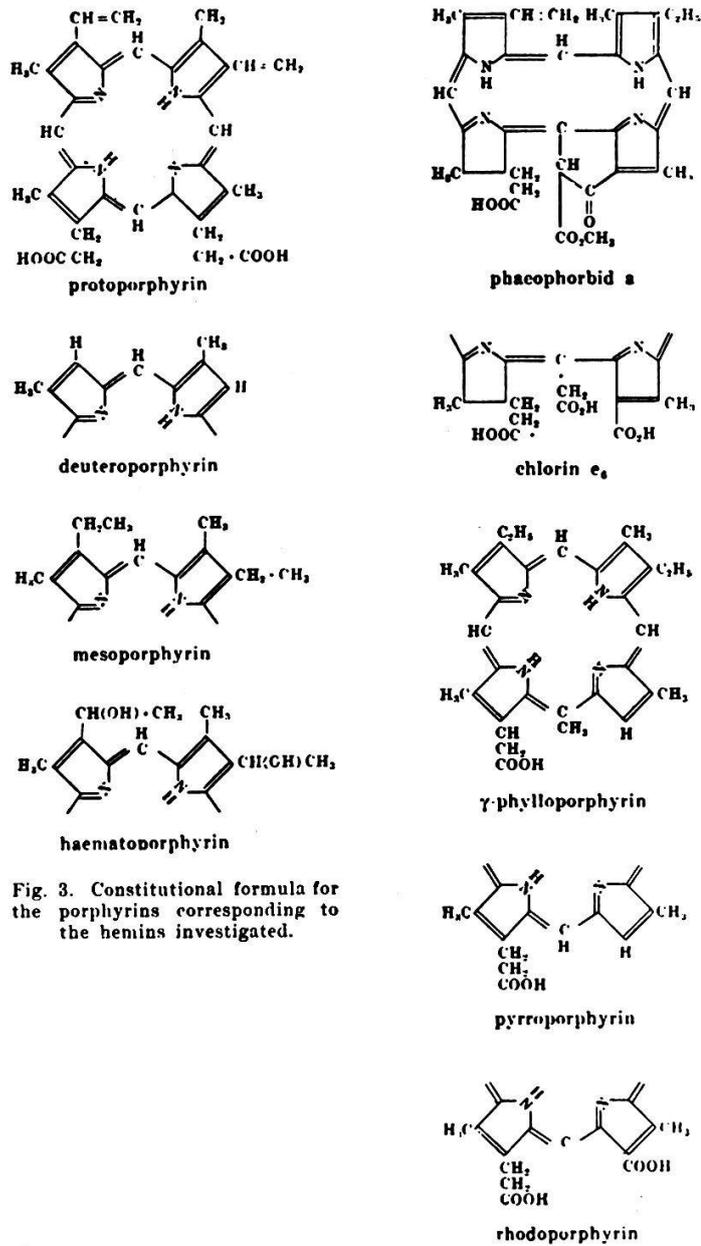


Fig. 3. Constitutional formula for the porphyrins corresponding to the hemins investigated.

Abb. 9.

gruppen im Eiweiss zum Eisen und zu den Propionylgruppen im Hämin genau passen müssen. Es ist ja auch leicht einzusehen, warum ein Ueberschuss von Hämin die Wirkung nicht steigert, wenn die spezifische Haftstelle schon mit Hämin abgesättigt ist.

Ein einfacher Versuch zeigt den Unterschied zwischen der Peroxydase und dem Methämoglobin in ihrem Verhältnis zum Wasserstoffsperoxyd. Gibt man die beiden Häminproteide in je ein Reagenzglas und pipettiert dem Eisen äquivalente Mengen Wasserstoffsperoxyd hinzu, so wird die PeroxydaseLösung blitzschnell

grünlich, während die Methämoglobinlösung allmählich rötlich wird und erst nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Minute die typischen Banden Met-Hb-H₂O₂ aufweist. Die Peroxydase-H₂O₂-Lösung bleibt nur kurze Zeit grün. Dann kann man Absorptionsbanden wahrnehmen, welche zeigen, dass das Eisen immer noch ionisch gebunden ist. Bald beginnt die Peroxydase-H₂O₂-Lösung rötlich zu werden; sie kann übrigens mit verschiedenen H₂O₂-Mengen zwei verschiedene rote Verbindungen geben. In diesen beiden ist das Eisen wahrscheinlich ebenso wie im Met-Hb-H₂O₂ covalent gebunden. Eine physiologische Bedeutung hat nach unserer Meinung nur die grüne H₂O₂-Peroxydase, denn sie wird schnell gebildet und wird schnell gespalten, z. B. bei Zugabe von Hydrochinon. Sowohl die Anlagerung von H₂O₂, wie die Reaktion der H₂O₂-Peroxydase müssen ja nun schnell verlaufen, wenn man bedenkt, dass ein Peroxydasemolekül 10^6 mal pro Minute reagieren kann. Das Methämoglobin kann deswegen keine nennenswerte Peroxydasewirkung haben, weil das H₂O₂ langsam angelagert wird, und die H₂O₂-Verbindung wird ausserdem langsam gespalten.

Wir stellen uns also vor, dass die Ursache der unvergleichlich starken Peroxydasewirkung der echten Peroxydasen im Vergleich zu den übrigen Häminproteiden die ist, dass nur sie allein, dank der Bindungsart des Hämins mit Eiweiss, H₂O₂-Verbindungen mit dem Eisen in ionischer Bindung bilden können. Eine Umlagerung zu covalenten Bindungen braucht also nicht stattzufinden; vielleicht geht die Reaktion gerade deswegen so schnell.

Zum Schluss möchte ich noch folgendes sagen. Es bleibt auf diesem Gebiet noch vieles zu erforschen übrig. Wir wissen z. B. nicht, wieso das zweiwertige Eisen gerade im Hämoglobin und Myoglobin Sauerstoff anlagern kann, ohne davon oxydiert zu werden. Wir wissen auch nicht, warum das Katalaseeisen nicht sogar von starken Reduktionsmitteln reduziert wird usw. Man wird beim Arbeiten auf diesem Gebiete tief davon beeindruckt, in welchem Masse die Eiweisskörper die prosthetischen Gruppen beherrschen, etwa wie ein Virtuose sein Instrument beherrscht. Aus dem Protohämin macht das Eiweiss einmal ein Hämoglobin, ein anderes Mal ein Cytochrom, eine Katalase oder eine Peroxydase. Andererseits kann das Eiweiss auch auf verschiedenen Instrumenten dieselbe Melodie spielen, so bei den Peroxydasen, die ungefähr die gleiche Wirkung haben, trotzdem die Hämine

verschieden sind. Jedoch ist das Eisen schliesslich an die Ausdrucksmöglichkeiten des Instruments gebunden. Ebenso wenig wie man ein Klavierkonzert auf der Flöte spielen kann, ebenso wenig kann das Eiweiss mit dem Hämin zusammen z. B. eine Decarboxylase bilden. Auf alle Fälle erblicken wir in dem Zusammenspiel zwischen Eiweiss und Hämin ein schönes Beispiel der ungeheuer fein differenzierenden Tätigkeit der Eiweisskörper im biologischen Geschehen.