

Tabelle. CO-Produktion von Mikroorganismen

Mikroorganismus	Versuchsdauer [Tage]	CO in Gasprobe [ppm]	Kontrolle [ppm]
Bakterien			
<i>Escherichia coli</i>	7	33,6	0,05
<i>Aerobacter aerogenes</i>	10	43,2	0,05
<i>Pseudomonas I</i>	19	1,7	1,22
<i>Pseudomonas II</i>	19	3,4	1,22
<i>Bacillus cereus var. mycoides</i>	17	1,52	1,1
<i>Lactobacillus brevis</i>	6	0,5	0,14
<i>Lactobacillus arabinosus</i>	5	0,20	0,18
Hefen			
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	6	2,6	0,08
<i>Sacharomyces oviformis</i>	3	1,4	0,11
Schimmelpilz			
<i>Aspergillus niger</i>	17	0,9	1,1

zeigten die Bakterien *Lactobacillus arabinosus* (homofermentatives Milchsäurebakterium), der Pilz *Aspergillus niger* sowie *Bacillus cereus var. mycoides*.

Eingegangen am 14. Mai 1971

[1] Swinnerton, J. W., Linneborn, V. J., Cheek, C. H.: Environment. Sci. Technol. 3, 836 (1969). — [2] Seiler, W., Junge, C.: J. Geophys. Res. 75, 2216 (1970). — [3] Wilson, D. F., Swinnerton, J. W., Lamontague, R. A.: Science 168, 1577 (1970).

Ein biologisch wirksames Peptid aus der Haut von Neunaugen

G. FISCHER und W. ALBERT

Hygiene-Institut der Universität Graz

In den vorliegenden Untersuchungen wird über die chemische und biologische Identifizierung zweier Peptide aus der Haut von Neunaugen (*Eudontomyzon danfordi vladkyovi*) berichtet.

Rohextrakte. Bereits der durch bloßes Abspülen der Tiere mit Methanol gewonnene Schleimextrakt (30 min Reizung mit Ätherdämpfen, Abwaschen mit der vierfachen Gewichtsmenge 99proz. Methanol, Eindampfen des Extraktes bei 40 °C bis zur Trockene, Aufnahme des Rückstandes in 0,9proz. NaCl) löste am isolierten Rattenuterus und am Meerschweinchenileum Kontraktionen aus. Dieser stimulierende Effekt blieb auch nach Zugabe der Antagonisten gegenüber den üblichen, in Organextrakten gelegentlich vorkommenden Begleit-substanzen voll erhalten. Da die Wirkung dieser aktiven Komponente durch Trypsin, Chymotrypsin und Carboxypeptidase B zerstört wird, muß es sich um Bradykinin oder ein Bradykinin-ähnliches Peptid handeln.

Hautextrakte. 100 g ungetrocknete Haut wurden mit der vierfachen Menge 99proz. Methanol 24 Std, anschließend zweimal mit der vierfachen Menge 80proz. Methanol extrahiert. Nach Vereinigung und Trocknung der Extrakte wurde mit der 20fachen Gewichtsmenge Chloroform/Methanol (2:1, v/v) entfettet und in 5 ml-Portionen lyophilisiert. Ein Vergleich des Extraktes mit Bradykinin ergab folgende Äquivalente:

Tabelle 1. Wirkungsvergleich des Extraktes aus 1g ungetrockneter Neunaugenhaut mit Bradykinin (N = je 5).

Rattenuterus	1,36 mg ± 0,30	kontrahierend
Rattenduodenum	4,38 ng ± 1,91	erschlassend
Kaninchenjejunum	1,68 mg ± 0,33	kontrahierend

Das Wirkungsbild des entfetteten Hautextraktes ähnelt dem von Bradykinin und Kallidin (Erschlaffung des Rattenduodenums). Ebenfalls war eine blutdrucksenkende Wirkung an der Ratte vorhanden. Extrakte aus abgehäuteten Tierkörpern zeigten keine Peptidwirkung.

Präparative Dünnschichtchromatographie. Chromatographiert wurde auf Kieselgel H (Fa. Merck) mit Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1) bis zu einer Laufhöhe von 15 cm. Zur Trennung trugen wir 50 µl Extrakt aus 0,1g Haut und als Referenzsubstanz 50 ng Bradykinin strichförmig auf. Nach Entwicklung wurde die Gesamtlaufstrecke in 1 cm-Abschnitte unterteilt, abgeschabt, die Einzelfractionen in 80proz. Methanol extrahiert und getrocknet. Die biologische Testung erfolgte am Rattenuterus. Die Hauptaktivität (5. und 6. Eluat) kommt dem Kinin zu, der Rf-Wert entspricht dem von Bradykinin. Die zweite, weniger wirksame Fraktion (10. Eluat) konnte noch nicht identifiziert werden. Da aber die Äquivalente an drei Präparaten nicht mit Bradykinin gleich waren, muß entweder eine Bradykinin-ähnliche Substanz oder die Interferenz durch das zweite wirksame Peptid neben „Bradykinin“ angenommen werden.

Eingegangen am 27. April und 10. Mai 1971

Kristallisation eines dimeren Insektenhämoglobins

G. BRAUNITZER und TRAUTE KLEINSCHMIDT

Max-Planck-Institut für Biochemie, München

Invertebratenhämoglobine haben ein hohes Molekulargewicht. Eine der wenigen Ausnahmen bilden die respiratorischen Proteine der Hämolymphe von Chironomidenlarven, die bei *Chironomus thummi thummi* als Monomere und Dimere vorliegen [1], wobei ein starker Polymorphismus gefunden wird. Das Häm ist mit dem der Vertebraten identisch [2]. Die Peptidketten unterscheiden sich in der Sequenz sowohl untereinander als auch gegenüber den Wirbeltierhämoglobinen erheblich [3]. Die Sekundär- und Tertiärstruktur konnte für die monomere Komponente CTT-III aufgeklärt werden [4], nachdem es schon früher gelungen war, sie zu kristallisieren [5]. Wir berichten über die Kristallisation eines symmetrischen dimeren Hämoglobins (Komponente CTT-IIβ) vom Typ α₂. Dieses Hämoglobin ist interessant, da seine Peptidketten — je nach den Versuchsbedingungen [6] — auch mit der monomeren Komponente CTT-III zu einem asymmetrischen Dimeren vom Typ α/β dimerisieren.

Zur Kristallisation von CTT-IIβ wurde ein an DEAE-Cellulose gereinigtes, lyophilisiertes Präparat verwendet, das in der Polyacrylamidgel-Elektrophorese einheitlich war. Eine etwa 0,1proz. Lösung des Hämoglobins in 0,01 M Kaliumphosphat-Puffer vom pH 6,0 wird bei Raumtemperatur bis zur einsetzenden Trübung mit fein pulverisiertem Ammoniumsulfat versetzt (41% Sättigung). Da die Löslichkeit von CTT-IIβ in Ammoniumsulfat-Lösungen mit abnehmender Temperatur zunimmt, verschwindet die Trübung beim Abkühlen auf 0 °C. Beim langsamen Erwärmen in einem tauenden Eisbad kristallisiert das Hämoglobin in sehr kleinen, keulenartig zusammengewachsenen Nadeln.

Bessere Kristalle werden erhalten, wenn eine noch ungetrübte Hämoglobin-Lösung nach 32proz. Sättigung mit Ammoniumsulfat und Animpfen in einem Exsikkator bei Wasserstrahlvakuum neben einer Schale mit gesättigter Ammoniumsulfat-

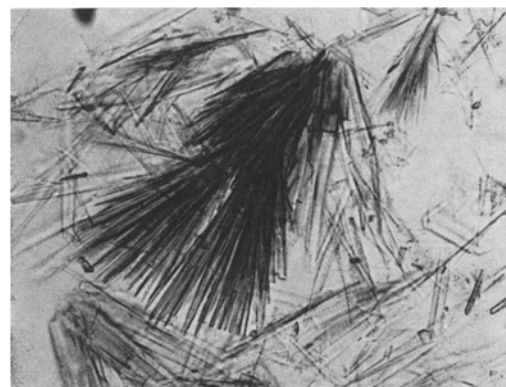


Fig. 1. Kristalle des dimeren Hämoglobins CTT-IIβ von *Chironomus thummi thummi*. × 233