

TH. BERSIN

KURZES LEHRBUCH DER
ENZYMOLOGIE

4. AUFLAGE



KURZES LEHRBUCH DER ENZYMOLOGIE

VON

PROF. DR. PHIL. THEODOR BERSIN

4., VERBESSERTE AUFLAGE

MIT 44 ABBILDUNGEN

1954

AKADEMISCHE VERLAGSGESELLSCHAFT
GEEST & PORTIG K.-G., LEIPZIG

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten

Copyright 1951 und 1954

by Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G. / Leipzig

Printed in Germany

Druck: (IV/5/1) Paul Dünnhaupt, Köthen L 129/53. Lizenz-Nr. 276 — 105/26/54

Vorwort zur 4. Auflage

Dieses Werk soll ein Lehrbuch für den Studenten und ein Wegweiser für die Wissenschaftler und Praktiker aller biologischen Disziplinen (Medizin, Chemie, Zoologie, Botanik u. a.) sein, soweit sie mit enzymatischen Geschehnissen in Berührung kommen. Deshalb habe ich es für nötig gehalten, nicht nur die theoretischen Grundlagen der Enzymologie, sondern auch einige praktische Anwendungen zu bringen.

Zahlreich sind die Probleme der präparativen Enzymchemie, ungelöst sind viele Fragen des fermentativen Stoffwechsels beim Gesunden und Kranken, und der industriellen Anwendung enzymatischer Synthesen, besonders auf dem Gebiete der Redoxasen, steht fraglos eine große Zukunft bevor. Der Enzymologe darf hoffen, daß die Zeit bald reif für die Errichtung von weiteren Forschungsinstituten seines Faches ist. Die Zahl der mit dem Nobel-Preis ausgezeichneten Enzymologen nimmt immer mehr zu.

In der ganzen Welt, vor allem aber in den USA., sind Fortschritte in der präparativen Darstellung und technischen Anwendung der Enzyme erzielt worden. Sie haben, nachdem die älteren Werke von OPPENHEIMER usw. überholt erscheinen, ihren Niederschlag in zwei Handbüchern:

NORD-WEIDENHAGEN, Handbuch der Enzymologie, 1940,

BAMANN-MYRBÄCK, Methoden der Fermentforschung, 1941

gefunden. Auf das moderne enzyklopädische Vielmännerwerk von SUMNER-MYRBÄCK, The Enzymes, 1950-52, sei empfehlend hingewiesen. Die industrielle Produktion und Anwendung der Enzyme wird von

TAUBER, The Chemistry and Technology of Enzymes, 1949, behandelt. Die laufende Forschung wird in kritischen Zusammenfassungen in den „Ergebnissen der Enzymologie“ und den von NORD herausgegebenen „Advances in Enzymology“ jährlich gewürdigt. Die Enzymologie der Mikroorganismen wird jährlich fortlaufend in den „Annual Review of Microbiology“ besprochen.

Die vorliegende 4. Auflage versucht einen Überblick über das Gesicherte zu geben und den gegenwärtigen Stand zu fixieren, wobei bewußt auf möglichst knappe Darstellung Wert gelegt wurde.

Neu aufgenommen wurden folgende Abschnitte: Enzymeinheiten, die praktische Verwendung der Enzyme, Transacylasen, Transpeptidasen, Fettsäurestoffwechsel.

Mit dem Wunsch, jungen Menschen Anregung zum experimentellen Schaffen zu geben, übermittele ich die neue Auflage der Öffentlichkeit. Für jede sachdienliche Anregung und Kritik werde ich stets dankbar sein.

St. Gallen, 1954.

Lab. Hausmann A.G.

THEODOR BERSIN

Inhaltsverzeichnis

Seite

Geschichtliche Einleitung. 1

Erster Teil. Allgemeine Eigenschaften der Enzyme

1. Kapitel: Das Stoffliche	5
1. Die kolloidale Natur der Enzyme	5
2. Der feinere Aufbau der Enzyme	6
3. Die Enzyme als Eiweißkörper	9
Über die Morphologie der Enzymmoleküle	15
2. Kapitel: Das Präparative	17
1. Darstellungsverfahren	17
2. Chromatographie	22
3. Untersuchungsmethodik	24
4. Enzymreaktionen in schwerem Wasser	24
5. Pharmakologische Aktivitätsbestimmung	26
6. Enzymeinheiten	26
3. Kapitel: Das Dynamische	28
1. Quantenmechanische Deutung von Enzymkatalysen	28
2. Kinetik	30
3. Die optische Spezifität der Enzyme	37
4. Die Temperaturabhängigkeit der Enzymwirkung	38
a) Hitzeinaktivierung	38
b) Einfluß der Kälte (Kryolyse)	39
c) Optimale Temperatur.	40
d) Temperaturkoeffizienten der Enzymwirkung	41
5. Strahlungseinwirkung	42
6. Die Wirkung sehr hoher Drucke auf Enzyme	44
7. Effektoren der Enzymwirkung	45
8. Enzyme als Redoxsysteme	50
4. Kapitel: Das Biologische	51
1. Über die Bildung der Enzyme	51
2. Verteilung von Enzymen in der Zelle	56
3. Enzymatische Histochemie.	58
4. Biologische Methoden zur Untersuchung der Fermentdynamik	59
5. Immunologische Eigenschaft von Enzymen	60
6. Synthetische Reaktionen der Enzyme	63
5. Kapitel: Die praktische Verwendung	64

Zweiter Teil. Die Enzyme als chemische Individuen

1. Kapitel: Die Hydrolasen	68
Abschnitt I: Esterasen	68
a) Allgemeines	68
b) Klassifizierung der Esterasen	70
Untergruppe I: Esterasen mit organischen Estern als Substrat	70

	Seite
A. Lipasen	70
a) Pankreaslipase (Sekretionsenzym)	71
b) Leberesterase (Organenzym, Aliesterasen)	72
c) Aktives Acyl und Cholinesterase	72
Aktives Acyl	72
Cholinesterasen	73
d) Lecithinasen	76
e) Phytolipasen	77
α) Rizinuslipase	77
Enzymatische Fettspaltung	78
β) Pektase (Pektinesterase)	78
B. Tannasen	79
C. Chlorophyllase	79
D. Transacylasen (Pantothensäurenzyme)	80
Phosphotransacetylase	80
E. Aminosäureacylasen	80
Untergruppe II: Esterasen mit anorganischen Estern als Substrat	81
A. Phosphatasen	81
a) Die „alkalische“ Phosphatase	81
b) Die „saure“ Phosphatase	85
c) Pyrophosphatase und Triphosphatase	86
d) Phytase	86
e) Transphasen	86
Waldenase	89
Glucosehexokinase	91
f) Adenosintriphosphatase (ATP-ase)	93
g) Ribonuclease und Desoxyribonuclease	94
B. Sulforylasen und Sulfatasen	96
Abschnitt II: Die Carbohydrasen	97
Allgemeines	97
Untergruppe I: Oligasen	99
a) α -Glucosidase	99
b) β -Glucosidase	100
Enzymatische Konfigurationsbestimmung	101
c) α -Galactosidase	102
d) β -D-Galactosidase	102
e) β -h-Fructosidase (Saccharase, Invertase)	103
Transfructosidasen	104
f) β -Glucuronidase	105
Nucleosidasen	105
Oligasen in der galenischen Pharmazie	105
Untergruppe II: Polyasen	107
a) Cellulase (Lichenase)	108
b) Amylasen (Diastase)	109
α -Amylase (Dextrinogenamylase, Glykogenase, tierische Amylase)	109
β -Amylase (Saccharogenamylase, pflanzliche Amylase)	112
c) Inulinase	114
d) Polyuronidasen	114
α) Pektinasen (Polygalacturonasen)	115

Inhaltsverzeichnis

	IX
	Seite
β) Hyaluronidase (Mucinase)	116
γ) Lysozym	117
Untergruppe III: Transglykosidasen	117
a) Transglucosidase	118
b) Transfructosidase	118
c) Amylomaltase	118
d) Amylosucrase	119
e) Dextransucrase	119
f) Levansucrase	119
g) Diphosphopyridin-Nucleotidase	120
Carbohydrasen in der Textilindustrie	120
Abschnitt III: Amidasen	120
Allgemeines	120
a) Urease	121
b) Histozyzm (Hippuricase)	123
c) Asparaginase und Glutaminase	124
d) Histidase	124
e) Allantoinase und Allantoicase	124
f) Arginase, Arginindesimidase und Citrullinureidase	125
g) Thiaminase (Aneurinase)	126
h) Penicillinase (Laktamase)	127
Abschnitt IV: Proteasen	128
Untergruppe I: Peptidasen	128
a) Aminotripeptidase	129
b) Carboxypeptidase und Konjugase	130
c) Dipeptidasen	132
d) Prolinase	133
e) Prolidase	134
f) Dehydropeptidasen	134
g) Transpeptidasen	135
Untergruppe II: Proteinasen	135
a) Pepsin und Pepsinogen	135
b) Trypsin	141
c) Trypsinogen	144
d) Trypsin-Inhibitor-Verbindungen	145
e) Enterokinase	147
f) Chymotrypsin und Chymotrypsinogen	148
g) Lab (Chymosin, rennin, la présure)	151
Das Labferment in der Milchwirtschaft	152
h) Papain	154
i) Kathepsin	158
Enzymatische Methoden zur Darstellung optisch aktiver Amino- säuren	159
Proteasen in der Lederindustrie	160
k) Thrombin	163
l) Renin	165
2. Kapitel: Die Redoxasen	165
Einleitung	165
a) Kupfer-Proteide	172
1. Monophenoloxydase (Tyrosinase)	172

	Seite
2. Polyphenoloxydase (Brenzkatechinoxydase, Catecholase)	173
3. Laccase	174
4. Coeruloplasmin	174
5. Ascorbinsäureoxydase	174
b) Eisenproteide	175
1. Das Atmungsferment (Eisen-Oxygenase)	175
2. Cytochromoxydase	177
3. Cytochrom c-Peroxydase	178
4. Die Cytochrome	178
5. Peroxydase	181
6. Verdoperoxydase	183
7. Katalasen	184
8. Aconitase	189
9. Fumarase	189
c) Flavinenzyme	189
Das alte gelbe Ferment oder Flavinenzym	190
Die Farbstoffkomponente	193
Bedeutung der gelben Fermente für den oxydoreduktiven Stoff- wechsel	196
d) Ketonaldehydmutase	198
e) Uricase	200
f) Lipoxydase	201
Redoxasen unbekannter Natur	203
g) Pyridine	204
1. Pyridoxal-Enzyme	204
11. Aminosäure-Decarboxylasen	204
12. Aminopherasen (Transaminasen)	206
13. Tryptophanase und Tryptophan-Desmase	208
14. Kynureninase	208
15. Homoserindesaminase	209
16. D-Serindesaminase	209
17. Alliinase	209
18. Razemase	210
19. Desulfhydrase	210
2. Diphosphopyridin-nucleotid-proteide	210
Diphosphopyridinnucleotid DPN (Cozymase, Coenzym I)	210
20. Apofermente der Cozymase	212
Die Rolle der Alkoholdehydrogenase beim Schvorgang	212
21. Glycerophosphat-Dehydrogenase	214
22. Sorbit-Dehydrogenase	214
23. Ameisensäure-Dehydrogenase	214
24. L-Glutaminsäure-Dehydrogenase	214
25. Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase	214
26. Glycerin-Dehydrogenase	215
27. α -Ketoglutarat-Dehydrogenase	215
28. Nitro-Reduktase	215
29. Luciferase	215
3. Triphosphopyridinnucleotid TPN (Coferment der Wasserstoff- übertragung, Coenzym II) und Proteide	217
4. Nicotinsäureamid-ribose-5-pyrophosphorsäure Coenzym III	219
g) Thiaminproteide	219
11. Carboxylase	219
12. Pyruvatoxydase und α -Ketoglutataroxydase	221
h) Kohlensäureanhydratase	222
i) Succinodehydrogenase	224

k) Hydrogenlyase	225
l) Aldolasen	226
α) 1,6-Diphosphofructoaldolase (Zymohexase)	227
β) 1-Phosphofructoaldolase	228
γ) Transketolase	228
δ) Transaldolase	228

Dritter Teil. Die Bedeutung der Enzyme für Atmung, Ernährung und Stoffwechsel

Einleitung	229
1. Kapitel: Bakterien, Hefen und Pilze	230
Abschnitt I: Enzymchemische Differenzierung von Hefen und Bakterien	230
Abschnitt II: Anoxydative Gärung	236
a) Die alkoholische Gärung	237
Alkoholische Getränke	241
b) Die Milchsäuregärung	244
c) Die Propionsäuregärung	244
d) Die Butanol-Aceton-Gärung	245
Abschnitt III: Oxydative Gärung	246
a) Enzymsysteme von Bakterien	246
1. Essigbakterien	246
2. Gluconsäurebildner	247
3. Ketonbildner	247
b) Enzymsysteme von Schimmelpilzen	247
1. Die Fumarsäuregärung	248
2. Die Citronensäuregärung	248
3. Die Oxalsäuregärung	249
c) Mikrobiologische Fettsynthese	249
d) Mikrobiologische Aminosäure-Synthese	250
Abschnitt IV: Die enzymatische Bindung des molekularen Stickstoffs	250
Abschnitt V: Schwefelbakterien	251
2. Kapitel: Phanerogamen	253
Die Bedeutung der Atmung für die Penetration der Salze in die Pflanzenwurzel	253
2. Die Assimilation der Kohlensäure	256
3. Samenkeimung	258
4. Enzyme als genotypische Merkmale von Pflanzen	259
5. Vitamine und Enzyme	259
Tabakbereitung	261
3. Kapitel: Tiere und Mensch	262
1. Atmung	262
Die Porphyrinsynthese	266
Atmung und Permeabilität	267
Stofftransport durch Zellgrenzflächen	267
2. Verdauung	271
3. Glykogenolyse	274
4. Fettsäurestoffwechsel	283
5. Neoplasmen	286
6. Enzyme in der Medizin	289
7. Vererbung und Enzymaktivität	313
8. Das Altern als enzymchemisches Problem	315
Autorenregister	317
Sachregister	322

Geschichtliche Einleitung

Die Lebensvorgänge sind mit chemischen Veränderungen der organischen Verbindungen, welche die organisierte Materie aufbauen, verbunden. Ein Verständnis für das Entstehen, Wachsen und Vergehen in der lebenden Natur ist nur dann möglich, wenn wir diese organischen Verbindungen in ihrer Konstitution kennen und die chemischen Prozesse, die an ihnen vor sich gehen, beherrschen.

Im Gegensatz zu der übergroßen Zahl der chemischen Vorgänge in der anorganischen Welt wird die Chemie der Lebensvorgänge beherrscht und gelenkt durch die eigentümlich hohe und auswählende Reaktionsfähigkeit einer beschränkten Anzahl chemischer Verbindungen, die wir heute als *biochemische Wirkstoffe* bezeichnen. Dazu zählen wir die *Enzyme, Vitamine, Hormone, Gamone, Termone, Wuchsstoffe, Organisatoren* und *Gensubstanzen*. Zwischen ihnen bestehen nahe Beziehungen, die es oft schwierig machen, eine scharfe Klassifizierung vorzunehmen. Nur bei den *Enzymen* ist es bis jetzt zum Teil recht weitgehend gelungen, Einblick in die Art ihrer chemischen Umsetzungen zu gewinnen.

Enzyme werden definiert als organische Katalysatoren kolloider Natur, die von lebenden Organismen erzeugt werden. Als Katalysatoren werden (MIRTSCH, 1936) solche Stoffe bezeichnet, die scheinbar durch ihre bloße Gegenwart chemische Reaktionen oder Reaktionsfolgen nach Richtung und Geschwindigkeit bestimmen, und zwar in der Regel auf dem Wege der Schaffung neuer Elementarakte und damit gewisser mehr oder weniger gut erkennbarer Zwischenstoffe und Zwischenzustände. Es steht heute fest, daß die Enzyme bei Vorhandensein der geeigneten Substrate und äußeren Bedingungen zwangsläufig auf Grund der intramolekularen elektrischen Kräfte Umsetzungen eingehen müssen. Die Fermente kommen in Konzentrationen von etwa 10^{-8} bis 10^{-9} Mol je Gramm Trockensubstanz in der Zelle vor.

Die Kenntnis von der Wirkung der Enzyme reicht bis in die graue Vorzeit zurück. So ist die Entstehung berauschender Getränke infolge einer eigentümlichen Zersetzung zuckerhaltiger Lösungen, die man „fermentatio“ (PLINIVS) nannte, wohl bei allen Völkern unserer Erde bekannt gewesen. Ebenso dürfte die Kenntnis von der Eigenart des Sauerteiges bei den ackerbautreibenden Völkern uralte sein. Allein so lange die deduktive Denkweise vorherrschte und das Anstellen von Experimenten nicht als notwendig erachtet wurde, bestehen höchst unklare Vorstellungen über derartige Vorgänge. In den Schriften der Alchimisten und Iatrochemiker

werden alle möglichen Reaktionen (Auflösung anorganischer Körper in Säuren, Gasbildung im Magen) mit der Gärung in einen Topf geworfen.

Erst im Jahre 1787 erscheint eine Abhandlung des Italieners FABRONI, der die Fermentation als nichts anderes wie die Zersetzung einer Substanz durch eine andere definiert. Aber zweifellos muß der Franzose PLANCHE (1810, 1820), der das thermolabile, lösliche Agens aus Pflanzenwurzeln, welches die Fähigkeit besaß, Guajak tinktur zu bläuen, in angereichertem Zustand isolierte und für einen Stoff ansah, als der Entdecker des ersten Enzyms angesprochen werden. Die in der Folge sich häufenden Beobachtungen führten BERZELIUS (1836) zur Formulierung seines Katalysatorbegriffes: „Es ist also erwiesen, daß viele . . . Körper . . . die Eigenschaft besitzen, auf zusammengesetzte Körper einen von der gewöhnlichen chemischen Verwandtschaft ganz verschiedenen Einfluß auszuüben, indem sie dabei in dem Körper eine Umsetzung der Bestandteile in anderen Verhältnissen bewirken, ohne daß sie dabei mit ihren Bestandteilen notwendig selbst teilnehmen, wenn dies auch mitunter der Fall sein kann. Es ist dies eine . . . neue Kraft . . . Ich werde sie . . . katalytische Kraft der Körper und die Zersetzung durch dieselbe Katalyse nennen.“ Heute glauben wir, daß auch die katalytische Kraft einst in die allgemeine Auffassung von den physikochemischen Wechselwirkungen zwischen Atomen und Molekülen aufgehen wird.

Es folgte dann in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts die berühmte Auseinandersetzung zwischen LIEBIG und PASTEUR über die Natur der Gärungsvorgänge. Während PASTEUR zweifellos das Verdienst zusteht, auf die lebenden Mikroorganismen als Erzeuger der Fermente hingewiesen zu haben, muß man heute die Intuition LIEBIGS, der in seinem Kampf gegen die mysteriöse „Lebenskraft“ stets auf der *chemischen* Natur der Umsetzungen der Substrate mit den Fermenten bestanden hat, bewundern¹⁾.

Der von KÜHNE (1878) für die außerhalb von Zellen zu beobachtenden Fermente geprägte Ausdruck *Enzyme* hat sich dann nach der Entdeckung BUCHNERS (1897) für alle kolloidalen organischen Biokatalysatoren eingebürgert. BUCHNER hat nämlich zeigen können, daß man den Enzymkomplex der alkoholischen Gärung auch frei von lebenden Hefezellen durch Auspressen erhalten kann, daß demnach einige Eigenschaften intracellulärer Enzyme auch außerhalb der Zellorganisationen beobachtet werden können.

Der Name eines Enzyms wird im allgemeinen mit Hilfe der Endung „-ase“ gebildet, wobei der Stamm des reagierenden Substrates zugrunde gelegt wird: Proteine werden von Proteinasen angegriffen, Oxydoreduktionen durch Redoxasen beschleunigt usw. Doch haben sich daneben alt-hergebrachte Namen wie Pepsin und Trypsin noch erhalten.

Die systematische Einteilung der Enzyme erfolgt in diesem Buche nach der Art ihrer chemischen Wirkung einerseits und ihrer chemischen Natur andererseits.

¹⁾ Näheres vgl. LILLEN, *Gesch. d. physiol. Chemie*. Wien 1935.

Eines der wesentlichsten Merkmale vieler Enzyme ist ihre optische Spezifität. Daher ist die Beobachtung PASTEURS (1858) über die auswählende Vergärung der Rechtskomponente des Ammonium-D,L-tartrats als Markstein in der Geschichte der Enzymforschung zu erwähnen. Ebenso ist die Beobachtung von DANILEWSKI (1862) über die Trennung von Pankreas-trypsin und -amylase durch Adsorption des ersteren an Kollodium hervorzuheben. Denn in der Folgezeit hat die *Adsorptionstechnik* in den Händen WILLSTÄTTERS und seiner Schüler bei der Enzymtrennung wichtige Dienste geleistet.

Daß die Enzyme nicht nur die hydrolytische bzw. oxydative Spaltung der Substrate beschleunigen, sondern auch als echte Katalysatoren zu synthetischen Leistungen befähigt sind, zeigte als erster CROFT HILL (1898), der die *enzymatische Synthese* der Isomaltose durchführte. Doch erwies sich später, daß die umfangreichen enzymatischen Synthesen im *lebenden Organismus* an die Zufuhr von Energie gebunden sind, wobei die Übertragung durch Phosphor-, Stickstoff- und Schwefel-Bindungen hoher Energie erfolgt. Für das Verständnis der Gruppenübertragung bei enzymatischen Reaktionen war die Entdeckung der Umesterung durch Chlorophyllase (WILLSTÄTTER) von Bedeutung. Durch die Untersuchungen von SÖRENSEN (1909), der die *fundamentale Bedeutung der optimalen Wasserstoffionenkonzentration* für die Wirkung der Enzyme feststellte, ergab sich die Möglichkeit zum quantitativen Studium der enzymatischen Kinetik. Die *chemische Natur der Enzyme* konnte erst zum Teil aufgeklärt werden. Dabei bestätigte sich die schon 1897 von BERTRAND ausgesprochene Vermutung, daß viele Fermente der Gegenwart dialysierbarer niedermolekularer Stoffe, der sog. Coenzyme, bedürfen. Verfeinerte Methoden der Reindarstellung unter Beachtung der Empfindlichkeit dieser hochmolekularen Verbindungen führten zur Isolierung der *kristallisierten Enzyme* (SUMNER, 1926). Die Entdeckung des Zusammenspiels der Enzyme in Fermentketten und Kreisprozessen (KREBS-Cyclus) vermittelte ein besseres Verständnis ihrer biologischen Aufgaben. Bedeutend^e Aspekte eröffnet die Möglichkeit einer histochemischen Lokalisierung der einzelnen Enzyme im Gewebe (GOMORI).

Bei den wasserstoffverschiebenden Enzymen, die als spezifische Redoxsysteme von Farbstoffcharakter erkannt wurden, hat die präparative Darstellung und Identifizierung der Wirkgruppen als Hämin (WARBURG, 1928; ZELLE, 1930), Flavinphosphorsäure (THEORELL, 1935), Kupfer (KUBOWITZ, 1937) und Pyridin (v. EULER, WARBURG, 1936; GUNSALUS, 1944) zu einer wesentlichen Klärung geführt. Die Untersuchung der zugehörigen hochmolekularen Proteine befindet sich noch im Fluß. Die Entdeckung des Coenzym A durch LIPMAN und des Acetyl-Coenzym A durch LYNEN klärte den enzymatischen Ab-, Um- und Aufbau der Fettsäuren, Sterine und Triterpene. Die als Vorarbeit zu einer späteren Darstellung synthetischer Enzyme gedachten Modellversuche LANGENBECKS (seit 1926) sowie die Untersuchungen über die Einwirkung spezifischer Aktivatoren, Hemmungskörper und Destruktoren auf Enzyme

(v. EULER¹), BERSIN, HELLERMANN) haben wichtige Schlüsse auf die Natur gewisser Wirkgruppen und den Mechanismus der Enzymwirkung gestattet. Weitere Fortschritte sind von der Anwendung künstlicher radioaktiver Isotope in der Enzymforschung zu erwarten, beispielsweise durch Markierung von Enzymen und Substraten.

Die praktische Anwendung enzymatischer Reaktionen war jahrhundertlang beschränkt auf die Gärungserscheinungen, welche von mikrobiellen Fermentsystemen hervorgerufen werden: alkoholische, essigsäure und milchsäure Gärung. Zwar spielten daneben auch die enzymatischen Vorgänge bei der Herstellung von Arzneimitteln, der Käsebereitung, der Tee- und Tabakverarbeitung, der Lederbeize u. a. eine gewisse Rolle. Aber von der Erkenntnis, daß es sich hierbei um fermentative Vorgänge handelt, bis zum überlegten Einsatz individueller Enzyme wird es noch einen langen Weg geben. In neuerer Zeit haben sich die industriellen Verfahren auf enzymatischer Grundlage noch um eine Reihe von weiteren vermehrt, wie etwa die Gewinnung der Antibiotika, die Citronensäuregärung, die Stärkeverzuckerung mit Pilzamyhasen und die enzymatische Ephedrinsynthese. Immer jedoch werden nicht zusammengesetzte Gemische einzelner vorrätig gehaltener Enzyme, sondern die sie produzierenden Kleinlebewesen eingesetzt. Daher muß von einem modernen biochemischen Techniker nicht nur die Kenntnis der Natur der zugrunde liegenden enzymatischen Reaktionen, sondern auch die Beherrschung der Bedingungen gefordert werden, unter denen die Enzyme von den lebenden Zellen erzeugt werden.

¹) Vgl. W. FRANKE, Naturwiss. 40 (1953) 177.

ERSTER TEIL

Allgemeine Eigenschaften der Enzyme

1. Kapitel: Das Stoffliche

1. Die kolloidale Natur der Enzyme

Die Enzyme werden definiert als organische Katalysatoren kolloider Natur. Damit wird eine Reihe in der Natur vorkommender organischer Katalysatoren von kristalloidem Charakter, z. B. Glutathion, Adenosin-triphosphorsäure, Ascorbinsäure u. a. von dieser Definition ausgeschlossen; ihre Besprechung wird daher nur dort erfolgen, wo sie als wichtige Zusatzkatalysatoren im enzymatischen Geschehen eine Rolle spielen.

Ältere Untersuchungen mit Hilfe des Diffusionskoeffizienten, wobei die Geschwindigkeit, mit der das Enzym aus seiner Lösung gegen das reine Lösungsmittel diffundiert, gemessen wird, hatten schon ergeben, daß einige Fermente Molekulargewichte von der Größenordnung einer fünfstelligen Zahl besitzen. Es mußte sich also um Makromoleküle handeln, die ja alle kolloiden Charakter haben. Alle Enzyme sind Eiweißkörper.

Heute wissen wir, daß für jedes Enzym im reinsten Zustand eine bestimmte Teilchengröße in Abhängigkeit vom p_H und der Temperatur charakteristisch ist. So hat das Molekül des Pepsins auf Grund von verschiedenen voneinander unabhängigen Bestimmungsmethoden ein Gewicht, das etwa der umstrittenen Einheitszahl für Proteine ($n \cdot 17500$) entspricht.

Molekulargewichte einiger Enzyme

Pepsin	35500
Altes gelbes Ferment.	80000
Katalase	248000
Urease	483000

Die Stabilität der lyophilen Kolloide, zu denen man die meisten Enzyme zu zählen hat, hängt in hohem Maße von ihrer elektrischen Ladung ab, die im isoelektrischen Punkt zum Ausdruck kommt. Teilchen mit gleichsinniger Ladung stoßen sich ab und bilden stabile Sole. Von der elektrischen Ladung hängt eine Reihe anderer Eigenschaften der Enzyme ab: die Viskosität, die Hydratation, die Löslichkeit, vor allem aber ihre Wirksamkeit.

Die enzymatischen Reaktionen stehen bezüglich der „katalysierenden Einheiten“ zwischen den *homogenen*, mit molekulardispers verteilten Kata-

lysatoren betriebenen, und den *heterogenen*, an ausgedehnten zusammenhängenden Katalysatoroberflächen vor sich gehenden Katalysen. Die nach diesem Verteilungsgrad von BREDIG gewählte Bezeichnung der enzymatischen Prozesse als *mikroheterogene* Katalysen bedeutet aber nicht nur eine formale Klassifizierung, vielmehr zeigen die Enzymreaktionen auch in ihrer ganzen Eigenart eine Mittelstellung zwischen homogener und heterogener Katalyse.

Isoelektrischer Punkt einiger Enzyme

Pepsin	PH 1,5
Urease	PH 5,0-5,1
Altes gelbes Ferment	PH 5,2
Chymotrypsin	PH 5,4
Katalase	PH 5,7
Trypsin	PH 7,0-8,0
Papain	PH 9,0

Durch Übergang der Reaktionsprodukte in eine andere Phase (Ausfällung, Lösung im Lipoid) können synthetische Prozesse ein größeres Ausmaß annehmen.

Es wird keineswegs jede Substanz, die einem enzymatischen Abbau unterliegt, von dem gleichen Enzym synthetisiert. So wird Stärke zwar durch Amylase abgebaut, aber durch Phosphorylase synthetisiert. Viele enzymatische Synthesen kommen nur zustande, wenn gleichzeitig energieliefernde Prozesse ablaufen.

2. Der feinere Aufbau der Enzyme

Die Untersuchung der chemischen Natur der Enzyme hat ergeben, daß bei ihnen aktive und aktivierende Gruppen im Molekül angenommen werden müssen. Je nach dem Faltungsgrad der Polypeptidketten, der von äußeren Umständen abhängt, können diese Gruppen eine verschiedene Reaktionsfähigkeit besitzen. Alle Enzyme lassen sich heute in drei Klassen unterbringen:

1. Proteine mit hauptvalenzmäßig eingebauten Gruppen, die Bestandteile von Aminosäuren sind (Pepsin, Trypsin, Urease, Carboxypeptidase, Papain).

2. Proteide mit haupt- und nebenvaleanzmäßig fest gebundenen prosthetischen Gruppen von Farbstoffcharakter (Atmungsferment, Cytochrome, Kupferprotein, Katalase, Peroxydase).

3. Proteide mit lose (salzartig) gebundenen prosthetischen Gruppen von Farbstoffcharakter (Flavinenzyme, Pyridinenzyme, Thiaminenzyme). Diese Art von Gruppen nennt man *Coenzyme*; die meisten davon haben Vitamincharakter. Bestimmte Bezirke im Molekül der Coenzyme sind ausschlaggebend für die katalytische Wirkung. Sie sollen *Reaktionsstellen* genannt werden. Solche Reaktionsstellen sind: die HS-Gruppe des Cysteamins im Coenzym A, die N-ständige Doppelbindung im Isoalloxazinring des Lactoflavins.

Die Aktivierung der Substratmoleküle erfolgt nur an einzelnen diskreten, durch ihre Zusammensetzung und Struktur besonders geeigneten Bezirken (*aktive Gruppen*) der Enzymoberfläche. Das für das enzymatische Geschehen so charakteristische hohe Leistungsvermögen der Enzyme tritt ausschließlich nach der ionogenen oder homöopolaren Verknüpfung dieser Gruppen mit dem hochmolekularen Proteinanteil in Erscheinung. In allen Fällen sind es wiederum besondere definierte chemische Gruppen (*aktivierende Gruppen*) dieser Proteine, welche durch Induktion, Dipolwirkung u. a. erst die Reaktionsfähigkeit eines Enzyms hervorrufen (Tyrosin-OH im Pepsin, Cystein-SH im Papain usw.)¹⁾. Die Bindung zwischen dem Coenzym und dem Protein kann verschieden fest sein; in manchen Fällen besteht ein dem Massenwirkungsgesetz unterliegendes Gleichgewicht. Wichtig ist die Tatsache, daß ein und dasselbe Coenzym z. B. einer Pyridinredoxase durch Vereinigung mit chemisch verschiedenen Proteinen Enzyme liefert. Vermutlich kann aber auch eine Inaktivierung durch Austausch mit „giftigen“ Proteinen stattfinden. Alle Enzymproteine sind Ionenaustauscher.

So wie sich bei der Umsetzung von Ba^{++} -Ionen mit SO_4^{--} -Ionen ein schwerlösliches Salz $BaSO_4$ bildet, können hochmolekulare Anionen (= Acidoide oder Kationiten) mit negativ geladenen Gruppen Kationen und hochmolekulare Kationen (= Basoide oder Anioniten) mit positiv geladenen Gruppen Anionen binden. Meist handelt es sich dabei in wässriger Lösung um eine *Austauschadsorption*²⁾, denn die permutoid reagierenden Adsorbentien sind beim Einsatz bereits mit niedrigmolekularen Ionen besetzt, welche im Sinne der HOFMEISTERSchen Reihe erst verdrängt werden müssen. Mehrsaurige Basen und mehrbasische Säuren wirken dabei besonders stark. Daß die Azidität der Lösung und die Vorbehandlung der Adsorbentien eine entscheidende Rolle spielt, ist einleuchtend. Je nach der Vorbehandlung enthält z. B. das viel zu Adsorptionszwecken benutzte Aluminiumoxyd an seiner Oberfläche Natriumionen (dann wirkt es als Acidoid) oder Chlorionen (in welchem Falle es als Basoid reagiert). Manche Austauscher wirken sowohl als Kationiten wie auch als Anioniten.

Von CRAMER (1952) ist gezeigt worden, daß *Einschlußverbindungen* große Ähnlichkeit mit Enzym-Substrat-Verbindungen haben. Die einschließenden Verbindungen mit ihren innermolekularen Hohlräumen wirken chemisch und optisch spezifisch, da die räumliche Erfüllung des Gastmoleküls für die Bildung der Einschlußverbindung wichtig ist. Der Hohlraum stellt einen Ort hoher Elektronendichte dar, verhält sich also wie eine Base im Sinne von BRÖNSTED und LEWIS; daher werden z. B. eingeschlossene enolisierbare Verbindungen als Antibasen enolisiert, weil sie als Elektronen-acceptoren fungieren. Es ist bei der spiraligen Struktur der Enzymproteine denkbar, daß auch diese als einschließende Verbindungen wirken, gewissermaßen als Schloß im umgekehrten Bilde von EMIL FISCHER:

¹⁾ Vgl. W. LANGENBECK, Naturwiss. 37 (1950) 44.

²⁾ TH. BERSIN, Naturwiss. 33 (1946) 108.