Bei der Oxydation des Eisenions im Cytochromkomplex wird demnach das Elektron über ein vorgebildetes $\text{N}=\text{C}-\text{NH}$ -System geleitet, wobei die Ähnlichkeit zu dem Element der Säureamidkette $\text{O}=\text{C}-\text{NH}$ bemerkenswert ist.

In dem dargestellten Formelbild greifen die Säureamidketten an den zweiten, nicht koordinativ gebundenen Stickstoffatomen der Imidazolringe an.

Auf diese Weise ist der in die Zellstruktur fest verankerte Cytochromkomplex in eine Leitungsbahn eingebaut und die Elektronenleitung erfolgt über die Imidazolringe quer durch das Porphyrinsystem, indem das Eisenion zweimal die Wertigkeit wechselt. Diese Vorstellung führt zu einer Reihe neuer Fragestellungen und Folgerungen, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll.

In bezug auf die Energiefortleitung absorbierter Strahlungsenergie gibt das mesomere Elektronensystem der Säureamidkette eine Vorstellung, auch im Hinblick auf langkettige konjugierte Systeme, die ebenfalls als eine elektronische Einheit zu betrachten sind. Zu welchen Folgerungen nun die Tatsache der langwelligen Eigenabsorption der konjugierten Doppelbindungen für die Säureamidkette führt, läßt sich ohne experimentelle Untersuchung nicht entscheiden, wobei jedoch von vornherein feststeht, daß eine entsprechende charakteristische UV-Absorption im Eiweiß nicht vorliegt.

F. Lynen bin ich zu Dank verpflichtet. Er hat bei ausführlichen Aussprachen zur Klärung und Erweiterung der theoretischen Vorstellungen beigetragen.

Über die Struktur des α -Keratins¹

Von HELMUT ZAHN

Aus dem Institut für Textilchemie in Badenweiler

(Z. Naturforsch. 2 b, 104—108 [1947]; eingegangen am 6. Februar 1947)

Eine Diskussion von Konstellationen der Peptidkette zeigt die Unwahrscheinlichkeit ebener Faltungsformen, wenn die Peptidkette nur wenig Glykokoll enthält und bei einem Faltungs-Entfaltungsmechanismus die Seitenkettenreste nicht umgeklappt werden dürfen. Durch Rotation der Peptidbindungen wird eine räumliche Faltungsform der Peptidkette erhalten, welche mit den Röntgendaten des α -Keratins verträglich ist. Diese Konstellation erlaubt die Entfaltung zur gestreckten Zickzackkette (Verlängerung um 30%), ohne Rhythmus und Richtung der Seitenketten in bezug auf die Ketten-Ebene zu ändern.

Die gittermäßig geordneten Anteile der Fasern der Keratin-Myosin-Gruppe kommen in zwei spannungsisomeren Modifikationen, dem nativen α -Keratin und der gedehnten β -Keratinform vor (W. T. Astbury, A. Street u. H. J. Woods²). Im β -Keratin besitzen die Peptidketten annähernd die mit dem Tetraedermodeil der Kohlenstoffva-

lenzen verträgliche Zickzackanordnung maximaler Länge, wobei zwei Aminosäurereste 6.7–7.0 Å lang sind. Im Röntgenogramm ungedehnter Keratine (α -Keratin) beträgt die wichtigste Periodizität in der Faserichtung 5.1 Å. Astbury nimmt an, daß die Peptidketten im α -Keratin zu einer kürzeren Form gefaltet sind, und deutet diese Inter-

¹ Vorgetragen im Kolloquium des Instituts für Textilchemie in Badenweiler, 8.1.47. Die in der vorigen Mitteilung (Z. Naturforsch. 1, 690 [1946]) beschriebenen amorphen Röntgeninterferenzen wurden auch von E. H. Mercer u. A. L. G. Rees (Austral. J. exp. Biol. med. Sci. 24,

175 [1946]) registriert. Sie finden diffuse Ringe bei 4.2, 2.1 und 1.05 Å.

² W. T. Astbury, A. Street u. H. J. Woods, Philos. Trans. Roy. Soc. London. Ser. A. 230, 75 [1931]; 232, 333 [1933].

ferenz als die Länge von drei Aminosäureresten, welche sich bei nahezu völliger Streckung im β -Keratin zu 10 Å beläuft. Die Verlängerung des α -Keratins beim Dehnen zum β -Keratin beträgt somit 100%. Die maximale Dehnung der Keratinfasern in Dampf ist ebenfalls 100%; sie wird quantitativ auf die Entfaltung des α -Keratins zurückgeführt.

Wir folgerten aus elastischen Untersuchungen an Keratinfasern, daß der größte Teil der Dehnung auf die Entknäuelung der ungeordneten Bereiche entfällt, und nahmen an, daß die Peptidketten bei der Entfaltung vom α - zum β -Keratin nur um 30% verlängert werden³, indem 5.1 Å der Länge von zwei Aminosäureresten entsprechen.

Stereochemie der Peptidkette

Aus den Röntgendaten der Keratine allein kann die Struktur der geordneten Anteile nach den klassischen Methoden der Strukturanalyse nicht eindeutig abgeleitet werden. Wir versuchen im folgenden, ausgehend von der gestreckten Zickzack-Peptidkette, durch stereochemische Überlegungen Faltungen zu finden, welche den wichtigsten Röntgeninterferenzen des α -Keratins nicht widersprechen.

Der Diskussion über die Art der Faltung der Peptidkette zur α -Form werden folgende Voraussetzungen zugrunde gelegt:

1. Bei der Faltung bzw. Entfaltung sollen Hauptvalenzen intakt bleiben.

2. Die Faltung hat sterisch unwahrscheinliche Konstellationen der Peptidkette zu vermeiden.

3. Die Seitenkettenreste der gestreckten Kette stehen abwechselnd links und rechts von der Ketten-Ebene ab.

4. Bei der Faltung und Entfaltung dürfen die größeren Seitenkettenreste keine sterisch unwahrscheinlichen größeren Bewegungen, Schwenkungen oder Umklappungen erfahren.

Die Peptidkette besitzt die größte Länge, wenn die einzelnen Glieder zickzackförmig in einer Richtung gestreckt sind, wie es beim Seidenfibroin verwirklicht ist. Man kann sehr verschiedene Faltungen der Peptidkette konstruieren, weil ihr C-C-N-Grundgerüst einfache Bindungen enthält, welche Rotationen der Kettenglieder erlauben. Bei der Ableitung von verkürzten Kettenformen haben

wir die in der Tab. 1 zusammengestellten Atomabstände und Winkel verwendet:

1. Abstände:

C—C	1.54 Å
CO—N	1.33 „
CHR—N	1.41 „
C=O	1.21 „
C—H	1.08 „
N—H	1.02 „
O...H...N	2.85 „

2. Valenzwinkel:

N	110°
C	109.5°

3. Projektionen von Atomabständen (aus 1 und 2 berechnet):

a) Projektionen parallel zur Kettenachse (Höhen)

C—C	1.26 Å
CO—N	1.09 „
CHR—N	1.14 „
C—N—C	2.25 „
C—N—C—C	3.5 „

b) Projektionen senkrecht zur Kettenachse (Breiten)

C—C	0.88 Å
C—N	0.71 „

Tab. 1. Atomabstände und Valenzwinkel in der Peptidkette in Å und Grad.

Eine gestreckte Peptidkette ist in der Abb. 1, links, schematisch dargestellt. Die C-N-C-Atome des Grundgerüsts liegen in einer Ebene (Backbone-Ebene), ebenso die Carbonylsauerstoffatome; die Wasserstoffatome der substituierten Säureamidgruppen stehen wie die mit R bezeichneten ersten Kohlenstoffatome der Seitenketten mit einem Winkel von 55° abwechselnd oberhalb und unterhalb von der Ketten-Ebene ab, ihre Projektionen bilden einen rechten Winkel mit der Kettenachse.

Ebene Faltungsformen der Peptidkette

Die gestreckte, aus zwei Aminosäuren bestehende Peptidkette der Abb. 1 (links) läßt sich verkürzen, wenn jeweils eine der drei verschiedenen Bindungen a) CO-NH, b) NH-CHR, c) CHR-CO in bezug auf die Backbone-Ebene um 180° umklappt. Hierbei erfahren die beiden an der Bindung beteiligten Gruppen Richtungsänderungen.

Fall a): Infolge der Umklappung der CO-NH-Bindung verschiebt sich die Kette seitlich um 2.1 Å und in der Länge um 1.5 Å. Die Richtung der bei der Klappung nicht beteiligten Kettenteile bleibt erhalten, die Steigung des geklappten Anteils beträgt 110°. Das Carbonylsauerstoffatom wie das

³ H. Zahn, Diss. Karlsruhe 1940; vgl. H. Nowotny u. H. Zahn, Z. physik. Chem. Abt. B 51, 265 [1942].

Abb. 1. Ebene Faltungsformen der Peptidkette
links: Gesteckte Peptidkette, Backbone-Ebene in der Zeichenebene, R=Projektionen der Seitenketten
..... unterhalb Ebene
..... oberhalb Ebene
rechts: Ebene Faltungsformen der Peptidkette (links) durch Rotation der a) CO-NH } Bindung
b) NH-CHR }
c) CHR-CO }
um 180° in bezug auf die Backbone (Papier)-Ebene.

Säureamidwasserstoffatom rotieren in der Ebene um 110° , die Sauerstoffatome stehen sich nunmehr in *cis*-Stellung mit dem zu kleinen Abstand von $0.9\text{--}1.0\text{ \AA}$ gegenüber, weshalb diese ebene Konstellation der Peptidkette *sterisch nicht möglich* ist.

Fall b): Infolge der Umlagerung der NH-CHR-Bindung rotieren das Amidwasserstoffatom und das erste Kohlenstoffatom der Seitenkette um 110° in bezug auf die Kettenrichtung und um 180° um die Backbone-Ebene, so daß oberhalb mit unterhalb vertauscht erscheint. Die ersten Kohlenstoffatome der Seitenkette stehen sich *cis*-ständig mit dem zu

kleinen Abstand von $1.3\text{--}1.4\text{ \AA}$ gegenüber. Daher ist auch diese ebene Konstellation der Peptidkette *sterisch nicht möglich*, es sei denn, die Seitenketten (R) bestehen wie beim Glykokoll nur aus einem Wasserstoffatom.

Fall c): Durch die Umlagerung der CHR-CO-Bindung ändert sich der Richtungssinn der Seitenketten in bezug auf die Backbone-Ebene. Wegen des zu geringen Abstandes sowohl der Sauerstoffatome wie der Seitenketten ist auch diese Form *sterisch nicht möglich*.

Bei Keratin enthält der größere Teil der Aminosäuren verhältnismäßig große Seitenkettenreste. Ein Faltungs- bzw. Entfaltungsmechanismus, bei welchem die Seitenkettenreste von einer Seite der Backbone-Ebene auf die andere umklappen, erscheint daher sehr unwahrscheinlich. Von den drei beschriebenen einfachen Operationen zur Konstruktion ebener Faltungsformen der Peptidketten ändern b) und c) den Richtungssinn der Seitenketten und a) scheidet wegen des zu geringen Abstandes der Carbonylsauerstoffatome aus⁴.

Räumliche Faltungsformen der Peptidkette als Möglichkeit der α -Keratinstruktur

Die ebenen Faltungsformen der Peptidkette führen zu Konstellationen mit sterisch nicht möglichen Atomabständen und unwahrscheinlichen Klappungen der Seitenketten. Letztere lassen sich vermeiden, wenn die Bindungen, welche das Ansatzatom der Seitenketten enthalten, die CHR-CO- und die CHR-NH-Bindungen, festgehalten werden. Die Verkürzung der Kette erfolgt durch Rotation der CO-NH-Bindung, jedoch nicht um 180° zur ebenen Konstellation der Abb. 1a) (oben), sondern um einen kleineren Winkel, so daß eine räumliche Faltungsform entsteht und die Abstände der Carbonylsauerstoffatome genügend groß bleiben. In Abb. 2 ist links eine gestreckte Peptidkette schematisch wiedergegeben. Die Backbone-Ebene der Zickzackkette steht dieses Mal senkrecht auf der Papierebene. Die Abstände der Kettenglieder bilden sich mit ihren Projektionen auf der Kettenachse ab (Höhen der Tab. 1). Die Seitenketten stehen links

⁴ Astbury u. Bell, Nature [London] **147**, 696 [1941], haben ein Mäander-Modell für α -Keratin angegeben. Hierbei ist eine Verkürzung von jeweils drei Aminosäuren um $5\text{ \AA}$ durch quadratische Faltung der Kette vorgesehen, welche sich nur durch ein teilweises Herausdrehen von Kettengliedern aus der ursprünglichen Ebene konstruieren

läßt. Da wir diese Publikation nur in Form einer schlechten Fotokopie kennen, können wir nicht entscheiden, ob bei der Entfaltung der α -Keratin-Kette Umlagerungen von Seitenkettengruppen von der einen auf die andere Seite des Rostes eintreten, welche wir für unwahrscheinlich halten würden.

und rechts senkrecht zur Kettenachse, die Neigung der ersten, mit R bezeichneten Kohlenstoffatome zur Backbone-Ebene beträgt 55° .

Abb. 2. Räumliche Faltungsform der Peptidkette als Möglichkeit der α -Keratinstruktur

links: Gestreckte Peptidkette, Backbone-Ebene senkrecht zur Zeichenebene.

rechts: Konstellation der Peptidkette durch abwechselnde, zu den Seitenkettengruppen R in *trans*-Stellung erfolgende Umklappungen der Peptidbindungen. (Keine Änderung der Anordnung der Seitenketten.)

Als Beispiel für eine räumliche Faltungsform ist in Abb. 2 rechts eine Konstellation der Peptidkette wiedergegeben, bei welcher jede Peptidbindung abwechselnd nach links und rechts in *trans*-Stellung zur Seitenkette R umgeklappt ist. Es läßt sich zeigen, daß aus sterischen Gründen die Rotation der Peptidgruppe 90° – 110° beträgt, wobei zwei Aminosäurereste sich von 7 Å auf 5,5–4,8 Å verkürzen. Die Translation der Peptidkette des α -Keratins in der Faserrichtung beträgt 5,1 Å. Richtung und Anordnung der Seitenketten bleiben bei der Faltung erhalten, und die Atomabstände sind räumlich möglich. Es besteht die Möglichkeit, daß sich zwischen den übereinanderstehenden Sauerstoff- und Stickstoffatomen Wasserstoffbrücken ausbilden, welche der Faltungsform des α -Keratins eine zusätzliche Stabilität verleihen würden. Der direkte Abstand zwischen Sauerstoff und Stickstoff beträgt

allerdings nur etwa 2,4–2,5 Å, im Gegensatz zu beinahe 2,9 Å für die Wasserstoffbrücke zwischen Diketopiperazinmolekülen (Brill⁵). Berücksichtigt man jedoch, daß die Richtung der C=O-Gruppe nicht zum N-Atom zeigt, so daß der Schwerpunkt des Kraftfeldes des Sauerstoffatoms außerhalb der direkten Verbindungslinie zum Stickstoff liegt, so ist eine Wasserstoffbrücke nicht ausgeschlossen. Die Faltenkette des α -Keratins würde eine Chelat-Verbindung darstellen⁶. Die Faltung unserer α -Kette läßt sich aus dem Wesen isolierter Peptidketten, nämlich der Knäuelungstendenz der großen Seitenketten und der Anziehung von CO- und NH-Gruppen, ableiten. Die beinahe horizontalen Faltenteile sind dicht belegt und erklären die starke Meridianinterferenz von 5,1 Å.⁷ Im β -Keratin verlaufen die CO-NH-Bindungen vertikal, entsprechend geht die starke Meridiansichel von 5,1 Å in die starke Äquatorinterferenz bei 4,7 Å über. Die α - β -Transformation stellt sich als ein Wechselspiel der Wasserstoffbrücken dar. Man weiß, daß alle Methoden, um β -Keratin zu erzeugen, Veränderungen an Wasserstoffbrücken hervorrufen, z. B. Wasser und Zug, Dampf und Druck, stärkere hydrotrope Chemikalien, wie Formamid oder Phenol, in der Hitze. Auch die Tatsache, daß das erste Stadium der raschen Dehnung von Keratinfasern einen erhöhten Kraftaufwand erfordert, beruht auf dem Dehnungswiderstand der Wasserstoffbrücken des α -Keratins. Die bekannte Abhängigkeit der Dehnungsarbeit von Keratinfasern von der Feuchtigkeit und der Temperatur läßt sich vom Standpunkt der Festigkeit von Wasserstoffbrücken deuten.

Ein Teil dieser Überlegungen ist bisher nicht zu beweisen und besitzt nur einen gewissen Wahrscheinlichkeitswert. Die postulierte Faltungsform für α -Keratin vermeidet eine Reihe von Unstimmigkeiten älterer Strukturvorschläge.

Schiebold⁸ hat bereits 1941 auf Grund kristallgittertheoretischer Überlegungen für α -Keratin eine räumliche Faltenkette angegeben, welche mit der hier stereochemisch begründeten im wesentlichen übereinstimmt. Das Modell von Schiebold weicht

⁵ R. Brill, Z. physik. Chem., Abt. B. **53**, 61 [1943].

⁶ Über Chelate vgl. W. Hückel, „Theoretische Grundlagen der organischen Chemie“, Band I, S. 120, 4. Aufl., Leipzig 1942. Über H-Brücken vgl. Hoyer, Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **49**, 97 [1943].

⁷ Nach R. Brill (Diskussionsbemerkung Heidelberg, 16. April 1947) sollte die starke Meridianinterferenz 5,1 Å im Röntgenogramm von α -Keratin bei unserem Modell schwach sein und die zweite Ordnung mit $d = 2,55$ Å stark auftreten. Denn nach diesem Abstand wiederholen sich sowohl die horizontalen Faltenteile als auch die eine dichte Belegung verursachenden Seitenketten R. Diese

Frage bedarf weiterer Untersuchungen. Nach H. Nowotny, Tettnang, (Brief vom 4. 6. 47), ist es verfrüht, die Auslöschung von Ordnungen von Röntgeninterferenzen anzugeben, weil die Symmetrie der Kette nicht geklärt ist. Insbesondere ist die Zahl der tatsächlich besetzten R-Stellen, deren Richtung und Reihenfolge unbekannt. Die 5,1-Å-Interferenz kann auftreten, wenn keine Symmetrie besteht. Dies ist z. B. der Fall, wenn die Seitenketten R verschieden schief zur Hauptkette stehen.

⁸ E. Schiebold, Kolloid.-Z. **96**, 296 [1941].

in folgenden Punkten von unserem Vorschlag ab:
 a) Die Umklappung der Peptidbindungen erfolgt in *cis*-Stellung zur Richtung der Seitenketten.
 b) Die Faltung vollzieht sich in der Backbone-Ebene. Die Richtung der Seitenketten verändert sich daher bei der Faltung und Entfaltung der Kette um 90°. c) Der seitliche Kettenabstand in der Backbone-Ebene ist im α - wie im β -Keratin 4.6 Å (bei Schiebold b-Achse), in der Seitenketten-Ebene 9.8 Å (a-Achse). Wegen der Verkürzung des Gitters in der Faserrichtung erfährt daher die Dichte des α -Keratins bei Schiebold eine Erhöhung um ca. 25%. Wir glauben jedoch mit Astbury, daß die Dichten der beiden Modifikationen praktisch gleich sind.

Da wir weder den genauen Winkel der beiden seitlichen Achsen noch die Lage der Backbone-Ebene der Faltenkette in bezug auf die ab-Ebene kennen, sind über die Einzelheiten des α -Keratin-

rostes nur Vermutungen zulässig. Es ist anzunehmen, daß die starke Äquatorinterferenz des α -Keratin-Röntgenogramms bei 24–27 Å für den vierfachen Kettenabstand in der Backbone-Richtung gilt, so daß sich als Kettenabstand ca. 6 Å ergeben. In dieser Richtung sind die Ketten weniger stark gebunden und die Kettenebene zur Rostebene in unbekannter Weise verdreht. Erst beim Entfalten zum β -Keratin bilden sich die engen und starken Wasserstoffbrücken in Richtung der Backbone-Ebene (a-Achse) aus, wobei der Kettenabstand von rund 6 auf 4.7 Å verkleinert wird.

Die vorliegenden Überlegungen bringen für die Struktur des α -Keratins zweifellos keine endgültige Lösung. Die Diskussion räumlicher Faltungsformen der einzelnen Peptidketten ist jedoch auch für das Verständnis anderer Proteine und ihrer Umlagerungen, z. B. bei der Denaturierung, von Bedeutung.

Über das Molekulargewicht des Tabakmosaikvirus

VON GERHARD SCHRAMM UND GERNOT BERGOLD

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Abteilung Virusforschung, Tübingen

(Z. Naturforsch. 2b, 108–112 [1947]; eingegangen am 30. November 1946)

Unter Berücksichtigung verschiedener Fehlerquellen wird das Molekulargewicht des Tabakmosaikvirus aus der Sedimentations- und Diffusionskonstante zu $40,7 \cdot 10^6$ bestimmt.

Das Tabakmosaikvirus (TMV) ist eine der am meisten untersuchten Virusarten. Trotzdem herrscht über eine seiner wichtigsten physikalisch-chemisch meßbaren Eigenschaften, das Molekulargewicht, noch eine große Verwirrung in der Literatur.¹ Hierzu hat leider der eine von uns (G. S.) durch eine früher durchgeführte, vorläufige Abschätzung beigetragen². Es war daher angebracht, durch sorgfältige Untersuchungen eine Klärung zu schaffen.

Für Teilchen von der Größe des TMV ist die von Svedberg angegebene Methode zur Bestimmung des Molekulargewichtes aus der Sedimentationsgeschwindigkeit in der Ultrazentrifuge, der Diffusionskonstante und dem spezifischen Volumen die sicherste. Hiernach ist

$$M = \frac{R T \cdot s_{20}}{D_{20} \cdot (1 - V \rho)} \quad (1)$$

M = Molekulargewicht, R = Gaskonstante, T = absolute Temperatur, s_{20} = Sedimentationskonstante in Svedberg (10^{-13} cm/sec dyn), D_{20} = Diffusionskonstante (cm^2/sec), V = spezif. Volumen des gelösten Stoffes, ρ = Dichte der Lösung.

Daneben können elektronenmikroskopische Versuche sowie viscosimetrische und andere Messungen zur Kontrolle herangezogen werden. Für sich allein sind diese Methoden wegen der Unsicherheit ihrer theoretischen Grundlagen zur Molekulargewichtsbestimmung vorläufig noch nicht brauchbar.

1. Bestimmung der Sedimentationskonstante

Die Beobachtung der Sedimentation in der Ultrazentrifuge erfolgte nach der Lammischen Skalenmethode. Die Anordnung der Skala war bei einigen

¹ S. R. Doerr, Handbuch d. Virusforsch., I. Erg.-Band, Wien 1944.

² G. Schramm u. H. Müller, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 266, 43 [1940].