Histidingehalt und Aktivität von Insulin

G. WEITZEL, W. SCHAEF, G. BODEN und B. WILLMS

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Tübingen
(Z. Naturforschg. 20 b, 497 [1965]; eingegangen am 27. März 1965)

*Herrn Professor EUGEN MÜLLER zum 60. Geburtstag
in freundschaftlicher Verehrung gewidmet*

Bislang ist ungeklärt, ob die Histidylreste im Insulin für die biologische Wirkung des Hormons essentiell sind. Zur Beantwortung dieser Frage ist die selektive Ausschaltung der Imidazolringe im Insulin erforderlich. Wir fanden, daß die *Fotooxydation* von Insulin unter Verwendung der von WEIL und Mitarbb.¹ ange-

Abb. 1. Abhängigkeit der Insulinwirksamkeit vom Histidingehalt fotooxydierter Insuline. Messungen am epididymalen Fettgewebe der Ratte. Aufgetragen sind die Mittelwerte der Insulinwirksamkeit mit Standardabweichung.

gebenen Methodik zur Zerstörung von Aminosäuren mit molekularem Sauerstoff in Gegenwart von Methylenblau die benötigte Spezifität für Imidazol besitzt. In abnehmender Reihenfolge der Empfindlichkeit werden durch die Fotooxydation zuerst Histidin, danach Tryptophan, Tyrosin, Methionin und Cystin angegriffen, wobei die 3 aromatischen Aminosäuren Ringöffnung erleiden. Da die Zerstörung des Histidins auch

im Polypeptidverband stattfindet und sowohl Tryptophan wie Methionin im Insulin fehlen, bot die Fotooxydation die Möglichkeit, durch Ausschaltung der Imidazolringe die Frage nach deren etwaiger Beteiligung an der Insulinwirkung zu beantworten.

Schon nach kurz dauernder Bestrahlung (3 bis 20 Min.) von Insulinlösungen traten hohe Histidin-, aber keine oder nur sehr geringe Tyrosinverluste auf, während Cystinoxydationen fehlten. Der gemessene Sauerstoffverbrauch entsprach rechnerisch dem Grade der Histidyl- und Tyrosyl-Verminderung. Als Folge der Imidazolzerstörung zeigten die fotooxydierten Insuline im Vergleich zu Normalinsulin eine Verschiebung des isoelektrischen Fällungsbereiches nach der sauren Seite, erhebliche Minderung der Pufferkapazität und Verlust des Zinkbindungsvermögens.

Sowohl der Blutzuckertest am Kaninchen als auch die Bestimmung der Insulinaktivität am überlebenden Fettgewebe der Ratte zeigten, daß die biologische Aktivität fotooxydierter Insuline mit zunehmender Bestrahlungsdauer absinkt. Infolge der bevorzugten, bei kurzen Bestrahlungszeiten ausschließlichen Zerstörung des Imidazols sind die Verminderungen der Wirksamkeit dem jeweiligen Imidazolverlust zuzuordnen. Darüber hinaus ergaben beide Tests übereinstimmend, daß die Insulinaktivität mit fortschreitender Imidazolzerstörung linear absinkt, wobei die Prozentwerte für den Wirkungsgrad und für den Gehalt an unversehrtem Histidin jeweils auf gleicher Höhe liegen. Insulinpräparate, in denen bis zu 50% der Histidylreste zerstört sind, enthalten noch 95–100% unzerstörtes Tyrosin. Daher ist es unwahrscheinlich, daß Schädigungen der Tyrosylreste an der Verminderung des Wirkungsgrades beteiligt sind.

Die Abbildung faßt das Ergebnis der Aktivitätsbestimmungen fotooxydierter Insuline am überlebenden Fettgewebe zusammen. Man erkennt, daß die Verminderung des Gehaltes an unversehrtem Histidin der Abnahme des Wirkungsgrades direkt proportional ist. Die Versuchsergebnisse führen somit zu dem Schluß, daß die unversehrten Histidylreste für die biologische Wirksamkeit des Insulins essentiell sind*.

¹ L. WEIL, W. GORDON u. A. BUCHERT, Arch. Biochem. Biophysics 33, 90 [1951].

* Eine ausführliche Mitteilung ist in Liebigs Ann. Chem. in Druck.

Enzymatische Bildung von Hexen-2-al-1 und Hexanal-1 bei der Aufarbeitung von Äpfeln

F. DRAWERT, W. HEIMANN, R. EMBERGER und R. TRESSL

Forschungs-Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof,
Abteilung Biochemie und Physiologie, Siebeldingen/Pfalz
und Institut für Lebensmittelchemie, Technische Hochschule
Karlsruhe

(Z. Naturforschg. 20 b, 497–498 [1965]; eingegangen am 7. April 1965)

Zwischen dem Aroma, das von lagernden Äpfeln abgegeben wird und dem Aroma von Apfelsäften besteht

häufig ein deutlich wahrnehmbarer Unterschied. Wir konnten mit Hilfe geeigneter gaschromatographischer Methoden nachweisen, daß eine Ursache der Abwandlung des natürlichen Aromas auf der sofort nach Zerstörung des Zellverbandes einsetzenden Spaltung von Fruchtestern durch Hydrolasen beruht. Diese Spaltung unterbleibt weitgehend, wenn die Fermente inhibiert werden (Alkohol). Bei diesen Untersuchungen, über die wir vor kurzem berichtet haben¹, fiel auf, daß ne-

¹ F. DRAWERT, W. HEIMANN, R. EMBERGER u. R. TRESSL, Naturwissenschaften, im Druck.