

OSZILLOPOLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DER EIWEISSSTOFFE

LILIANA W. WALTSCHewa

Biochemisches Zentrallaboratorium an der Bulgarischen Akademie der Wissenschaften
in Sofia

Byla sledována závislost hloubky zářezů na křivkách $dE/dt = f_1(E)$
albuminu a hemoglobinu na koncentraci bílkoviny, teplotě a pH.

Frühere Untersuchungen [1—3], die von uns durchgeführt wurden, gaben die Möglichkeit, Folgendes zu beobachten: Pflanzen- oder Tierhomogenaten, sowie auch Lösungen der Eiweissstoffe zeigen einen spezifischen Einschnitt an der oszillopolarographischen Kurve. Bei Zugabe von Kupferionen in die Lösung verschwinden allmählich die spezifischen Einschnitte des Eiweisses und des Kupfers, indem ein neuer Einschnitt bei negativerem Potential auftritt.

Der Zweck dieser Arbeit war die Untersuchung der quantitativen Veränderungen des Einschnittes bei verschiedenen Konzentrationen der Eiweissstoffe, pH-Werten und Temperaturen.

Experimenteller Teil

Die oszillopolarographischen Kurven der Funktion $dE/dt = f_1(E)$ wurden mit dem Polaroskop P 524 bei Anwendung der Quecksilbertropfelektrode verfolgt.

Es wurden folgende Präparate verwendet: zweimal rekristalisiertes Hämoglobin nach Hoppe—Seyler [4] und Ovalbumin nach Sörensen—Höyrup [5], beide in unserem Laboratorium hergestellt. Es wurde mit 0,15 M Phosphatpuffer nach Sörensen bei pH-Werte 4,94; 5,59; 6,24; 7,17; 7,73; 8,34; 9,18 gearbeitet. Die zum Studium der Abhängigkeit der Einschnittstiefe vom pH-nötigen Lösungen enthielten 0,3 mg/ml Hämoglobin und 0,05 mg/ml Albumin. Die Abhängigkeiten wurden bei drei verschiedenen Temperaturen (15, 40 und 60 °C) verfolgt.

Beim Studium der Abhängigkeit der Einschnittstiefe von der Temperatur wurde bei denselben Konzentrationen der Eiweissstoffe wie bei der pH-Untersuchungen gearbeitet. Die Epruvetten wurden im Block-Termostat bei verschiedenen Temperaturen in dem Bereich von 15—80 °C gelagert und entweder knapp nach dem Vergiessen der Lösungen, oder nach 2-stündiger Temperierung und darauf folgender Kühlung als auch nach 24-stündigen Verbleichen bei Zimmertemperatur aufgenommen und gemessen.

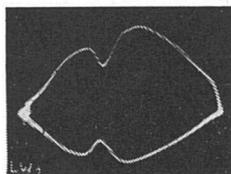


Abb. 1. $dE/dt = f_1(E)$ -Kurve des Albumins.
Konzentration 80 $\mu\text{g/ml}$; Phosphatpuffer pH 6,2.

Ergebnisse

Zuerst untersuchten wir die Variationen der Einschnittstiefe bei pH 5 mit steigender Konzentration des Eiweissstoffes in der Lösung. Bei Konzentrationen bis 30 γ/ml ergibt sich lineare Abhängigkeit zwischen der Einschnittstiefe und der Konzentration. Bei grösseren Konzentrationen (300 γ/ml) ergibt sich besonders für Albumin immer kleinere

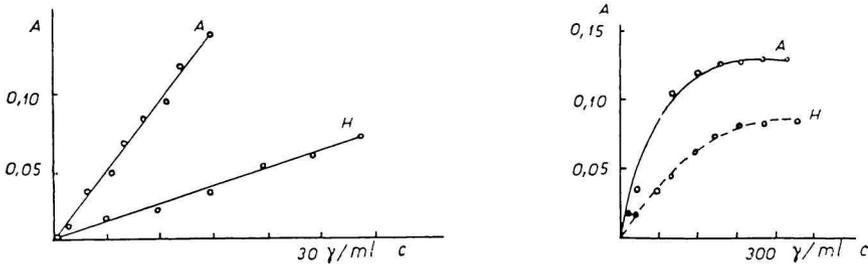


Abb. 2. Abhängigkeit der Grösse des Einschnittes von der Konzentration des Albumins und Hämoglobins.
a) bei kleineren Konzentrationen; b) bei grösseren Konzentrationen.

Zunahme der Einschnittstiefe, indem die Kurve einem konstanten Wert der Sättigung, abgesehen von der Steigerung der Eiweisskonzentration nachstrebt (Abb. 1, 2).

Bei konstanter Konzentration des entsprechenden Eiweisses haben wir die Variation der Einschnittstiefe bei verschiedenen pH-Werten und Temperaturen studiert (Abb. 3). Die Einschnittstiefe beider Eiweissstoffe vermindert sich mit zunehmendem pH-Wert, was besonders bei höheren Temperaturen am deutlichsten ist. Ausserdem verschiebt sich das Potential des Einschnittes mit steigenden pH-Werten zu negativeren Potentialen.

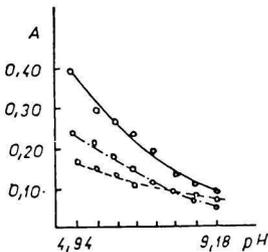


Abb. 3. Die Änderung der Grösse des Einschnittes von Albumin bei verschiedenen pH-Werten und Temperaturen.

— $t = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - - - $t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$
 ····· $t = 15\text{ }^{\circ}\text{C}$

Wir untersuchten weiter auch die Änderung der Einschnittstiefe in Abhängigkeit von der Temperatur. Gleich nach dem Vergiessen der Lösungen nimmt die Einschnittstiefe bei Hämoglobin mit zunehmender Temperatur ab. Nach 2-stündiger Temperierung und darauf folgender Kühlung und nach 24-stündigen Verbleiben bei Zimmertemperatur, werden Maxima bei cca 50—55 °C beobachtet. Für das Albumin sind diese Maxima be-

sonders typisch ausgeprägt und kommen schon am Anfang des Versuches in dem Bereich von 60 °C zum Ausdruck (Abb. 4).

Diskussion

Die beobachteten Einschnitte haben kapazitiven Ursprung und zeigen eine Sättigung infolge der Bedeckung der ganzen Elektrodenoberfläche von verhältnismässig langsam sich bewegenden polyvalenten Eiweissmolekülen.

LITERATUR

1. Kalaidischiew A. T., Waltschewa L. W., II. inter. Symposium über den Mechanismus des Erregung, Berlin 1958. — 2. Kalaidischiew A. T., Waltschewa L. W., Compt. rend. de l'Academie bulgare des Sciences 11, 411 (1958). — 3. Kalaidischiew A. T., Waltschewa L. W., Ber. physiol. Inst. der BAW 4, 207 (1960). — 4. Hoppe—Seyler, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 173, 233 (1918). — 5. Sörensen—Höyrup, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 103, 15 (1918).

Dr. Liliana W. Waltschewa, Sofia 4, Šipka 35.