

Über ein Glyko-Makropeptid, ein Spaltprodukt des Caseins, erhalten durch Einwirkung von Lab*

Die Primärreaktion (enzymatische Phase) der Labgerinnung der Milch kann, wie kürzlich gezeigt wurde¹, in ihrem zeitlichen Verlauf dadurch verfolgt werden,

* Vorläufige Mitteilung. Vorgetragen am 23. Februar 1957 an der Winterversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Bern.

¹ CH. ALAIS, G. MOCQUOT, HS. NITSCHMANN und P. ZÄHLER, *Helv. Chim. Acta* 36 (1953) 1955. HS. NITSCHMANN und W. KELLER, *ibidem* 38 (1955) 942. HS. NITSCHMANN und H. U. BOHREN, *ibidem* 38 (1955) 1953.

daß man zu verschiedenen Zeiten nach dem Labzusatz in Milch oder Alkalicaseinatlösungen den gebildeten Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) bestimmt. Darunter werden die Spaltprodukte des Caseins verstanden, die beispielsweise in Trichloressigsäure löslich sind. Die Primärreaktion ist bald einmal zu Ende, und dann folgt, falls genügend Calciumionen im System vorhanden sind, die Sekundärreaktion, d. h. die Koagulation des Ca-Lab-caseinates.

Unter den leicht löslichen Spaltprodukten, die bei dieser spezifischen enzymatischen Reaktion vom Casein abgetrennt werden, befindet sich ein Körper, der eine beträchtliche Teilchengröße besitzen muß, da er nicht durch Cellulosemembrane dialysiert. ALAIS² hat kürzlich gezeigt, daß dieses Makropeptid in elektrophoretisch fast reiner Form erhalten werden kann, wenn man Nacaseinatlösung labt, mit 12% Trichloressigsäure fällt und das Filtrat, in dem das Peptid gelöst ist, durch Ätherextraktion und Dialyse von Trichloressigsäure, Salzen und kleineren Caseinbruchstücken befreit. Ein von ALAIS auf diese Weise hergestelltes Präparat, dessen Menge 1,5 bis 2% des Caseins ausmacht, wurde analysiert.

In der Ultrazentrifuge und beim Diffusionsversuch verhält sich das Peptid als monodispers. Sein Molegewicht wurde für uns von R. WEBER zu 6000–8000 bestimmt. N-Gehalt 11,4%; Amid-N 1,83%. Die weitere Analyse hat bisher ergeben: Peptidanteil 60%, Galaktose 15,2%, Glukosamin 4,3%, Neuraminsäure 11,4%, P (nach ALAIS) 0,57%. Aminosäurezusammensetzung, bestimmt nach LEVY³: Anteile in Mol Aminosäure pro 10⁵ g Peptid: Asp 49, Glu 160, Ser 110, Threo 252, Prol 104, Val 82, Leu/Isoleu 85, Ala 96, Gly 14, Lys 10.

Besonders auffallend ist der hohe Gehalt an Oxyaminosäuren (Ser, Threo). Wahrscheinlich sind diese

² CH. ALAIS, XIV. Internationaler Milchwirtschaftskongreß, Rom 1956, Vol. II, S. 823.

³ A. L. LEVY, *Nature* 174 (1954) 126.

OH-Gruppen glukosidisch mit den Zuckern verknüpft. Asparagin- und Glutaminsäure liegen amidiert vor.

Mit der Dinitrophenyl-Markierung konnte keine freie α -Aminogruppe nachgewiesen werden.

Wenn gelabte Caseinlösungen statt mit Trichloressigsäure durch Ansäuern mit HCl bis pH 4,7 gefällt werden, so bleiben 4 bis 5% NPN in Lösung. Dieses Material enthält, wie papierchromatographisch gezeigt werden kann, neben dem Glyko-Makropeptid eine Reihe anderer kleinerer Peptide. Durch quantitative Auswertung der Chromatogramme solcher NPN-Präparate, die nach verschieden langer Einwirkung von Lab auf Nacaseinatlösung gewonnen worden waren, konnte gezeigt werden, daß das beschriebene Makropeptid eine andere Kurve als die kleineren Peptide ergibt, wenn man die gebildete Menge (N-Gehalt der Flecke) gegen die Zeit nach dem Labzusatz aufträgt. Es erscheint gegenüber jenen mit einer sehr beträchtlichen Verzögerung.

Die Abtrennung des außerordentlich hydrophilen Glyko-Makropeptides vom Casein ist möglicherweise für die verminderte Löslichkeit des Ca-Labcasينات und damit also für die Gerinnung der Milch nach Labzusatz verantwortlich.

Hs. NITSCHMANN, H. WISSMANN und R. HENZI

Institut für organische Chemie und Theodor-Kocher-Institut
Universität Bern