

## Über neuraminsäurehaltige Glykoproteide des Blutserums

Von

E. Klenk und W. Stoffel

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Köln

(Der Schriftleitung zugegangen am 3. Oktober 1955)

Nachdem es vor kurzem Böhm und Baumeister<sup>1</sup> gelungen ist, aus den Gesamtproteinen des menschlichen Blutserums Methoxyneuraminsäure als Spaltprodukt zu gewinnen, berichten wir im folgenden über die Isolierung dieser Verbindung aus Fetuin<sup>2</sup>, einem Glykoprotein, das im Blutserum von neugeborenen Kälbern und Kälberföten vorkommt und das sich daraus nach einem verhältnismäßig einfachen Verfahren in größeren Mengen darstellen läßt.

In dem Serum von Kälberföten fanden wir den relativ hohen Neuraminsäure(NS)-Gehalt von 112 mg% [0,04(0,05) cem Serum, E = 0,805(0,975)], entspr. 45(56)  $\gamma$  NS, nach Böhm und Mitarbb.<sup>3</sup>, während für das menschliche Serum Werte von 40—65 mg% angegeben werden<sup>3</sup>. Durch Papierelektrophorese nach dem Verfahren von Grassmann und Hannig<sup>4</sup> (250 V, 10 mA, Veronal-Veronal-Na-Puffer,  $p_H$  8,6, Ionenstärke 0,05) konnten 3 anodisch laufende Eiweißfraktionen abgetrennt werden, die einer Albuminfraktion sowie einer  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Globulinfraktion entsprachen. Jede der 3 Fraktionen wurde gegen dest. Wasser dialysiert und gefriergetrocknet. Albuminfraktion: gef. 2,1% NS\*,  $\alpha_1$ -Globulinfraktion: gef. 2,8% NS;  $\alpha_2$ -Globulinfraktion: gef. 0% NS.

### Beschreibung der Versuche

Fetuin: 1200 cem Plasma, das aus Oxalatblut von Kälberföten im 6. bis 9. Monat gewonnen war, wurde auf Fetuin nach dem Verfahren von Deutsch<sup>5</sup> aufgearbeitet. Von der Vorschrift wichen wir nur insofern ab, als nach der Ausfällung des Fibrinogens, der Albumine und eines Teils der Globuline mit Trichloressigsäure (mit Alkohol ausgewaschene und getrocknete Substanz: gef. 0,8% NS) das in Lösung verbliebene Fetuin nach der Dialyse durch Gefrierdrying und nicht durch Fällung mit Ammoniumsulfat gewonnen wurde. Trockenrückstand (Rohfetuin) 14,9 g, gef. 5,4% NS.

\* Die Albuminfraktion enthielt noch  $\alpha_1$ -Globulin.<sup>1</sup> P. Böhm u. L. Baumeister, diese Z. **300**, 153 [1955].<sup>2</sup> K. O. Pedersen, Nature [London] **154**, 575 [1944].<sup>3</sup> P. Böhm, St. Dauber u. L. Baumeister, Klin. Wschr. **32**, 289 [1954].<sup>4</sup> W. Grassmann u. K. Hannig, diese Z. **292**, 32 [1953].<sup>5</sup> H. F. Deutsch, J. biol. Chemistry **208**, 669 [1954].

Nach Abtrennung des mit Alkohol leichter fällbaren Anteils (3,2 g eines bräunlichen Pulvers, gef. 4,9% NS) erhielt man 7,1 g des gereinigten Fetuins. Leicht grau gefärbtes Pulver, das sich in Wasser gut löst. Papierelektrophoretisch war die Substanz einheitlich. Bei der Prüfung mit der Ultrazentrifuge ergab sich eine kleine Verunreinigung mit einem anderen Protein. Tab. 1 enthält die Analyseergebnisse von diesem Fetuinpräparat und zum Vergleich die von Deutsch gefundenen Werte, ebenso die entsprechenden Werte des Mukoproteids, das von Weimer u. a.<sup>6</sup> aus normalem menschlichem Plasma gewonnen wurde.

Tab. 1. Vergleich der chemischen Zusammensetzung verschiedener Serum-Glykoproteide.

	%N	% Hexose	% Hexosamin	% NS
Fetuin				
eigene Darstellung . . . .	12,4	5,3*	9,9	6,0
Werte von Deutsch <sup>5</sup> . . . .	13,39	9,5	etwa 8	—
Mukoprotein von Winzler <sup>6</sup> . .	10,1	16,4	11,9	8,0**

\* Differenz von 15,2% Gesamtzucker berechnet als Galaktose (bestimmt nach Somogyi<sup>7</sup>) und 9,9% Hexosamin (bestimmt nach Elson u. Morgan, mod. von Blix<sup>8</sup>).

\*\* Nach Angaben von Böhm u. Mitarbb.<sup>3</sup>

Methoxyneuraminsäure: Die Methoxy-NS wurde aus dem Fetuin nach der Methode von Klenk und Lauenstein<sup>9</sup> gewonnen. Aus 6 g Substanz erhielt man 1,95 g Ba-Salze (gef. 9,4/9,3% NS). Die Menge der aus wäbrigem Alkohol und schließlich aus Wasser umkristallisierten, reinen Methoxy-NS betrug 67 mg oder 19% d. Theorie. Zur Analyse wurde die Substanz im Hochvak. bei 65° getrocknet.

4,800 mg: 7,500 mg CO<sub>2</sub>, 3,030 mg H<sub>2</sub>O; 3,822 (3,441) mg: 1,218 (1,105) cem  $n/100$  HCl (Mikro-Kjeldahl).

C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>O<sub>9</sub>N Ber. C 42,44 H 6,80 N 4,50  
Gef. C 42,6 H 7,06 N 4,46 (4,50)

Spezif. Drehung: 18,49 mg gelöst in 0,5089 g Wasser,  $c = 3,633$ ; bei 20° im 1-dm-Rohr.  $\alpha$ : - 2,045°.  $[\alpha]_D^{20}$ : - 56,5°.

Der Wert stimmt mit dem der Methoxy-NS aus Rindersubmaxillarismucin<sup>9</sup> befriedigend überein. Ebenso gibt die Substanz bei der NS-Bestimmung genau dieselbe Extinktion wie diese. Auch bei der papierchromatographischen Prüfung zeigen beide Substanzen dasselbe Verhalten<sup>10</sup>.

Die Untersuchung wurde durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Verbands der Chemischen Industrie, Fonds der Chemie, unterstützt.

<sup>6</sup> H. E. Weimer, J. W. Mehl u. R. J. Winzler, J. biol. Chemistry **185**, 561 [1950].

<sup>7</sup> M. Somogyi, J. biol. Chemistry **117**, 771 [1937].

<sup>8</sup> G. Blix, Acta chem. scand. **2**, 467 [1948].

<sup>9</sup> E. Klenk u. K. Lauenstein, diese Z. **291**, 147 [1952].

<sup>10</sup> E. Klenk u. H. Faillard, diese Z. **298**, 230 [1954].

**Zusammenfassung**

Fetuin aus Blutplasma von Kälberföten enthält 6% Neuraminsäure. Letztere wurde in Form der kristallisierten Methoxyverbindung isoliert, welche mit der Methoxy-neuraminsäure aus Rindersubmaxillarismucin identisch ist.

**Summary**

Fetuin from the blood plasma of calf fetuses contains 6 per cent of neuraminic acid. The latter was isolated in the form of the crystalline methoxy compound which is identical with the methoxyneuraminic acid from bovine submaxillary mucin.