

Beziehungen zwischen Vitamin B₁₂ und der Desoxyribonucleinsäure

Von ADOLF WACKER, DÖRTHE PFAHL und INGEBOG SCHRÖDER

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Technischen Universität Berlin, Berlin-Charlottenburg
(Z. Naturforsch. **12 b**, 510—512 [1957]; eingegangen am 19. Juni 1957)

Mit Vitamin B₁₂ als Wuchsstoff synthetisiert *Lb. leichmannii* die drei- bis vierfache Menge Desoxyribonucleinsäure. Der Ribonucleinsäure-Gehalt ist in den mit Desoxyribosiden oder Vitamin B₁₂ gewachsenen Zellen der gleiche.

Bei *Lactobacillus leichmannii* kann man Vitamin B₁₂ als Wuchsstoff durch die Desoxyriboside der Purine und Pyrimidine ersetzen, ja sogar nach Adaptierung auch durch 5-Bromuracildesoxyribosid¹. Durch eine Reihe von Beobachtungen gelangen wir zu dem Schluß, daß die dem Bakterium angebotenen Desoxyriboside eine Aufspaltung in die Basen und eine Desoxyribose-Verbindung erleiden, wobei allein die Desoxyribose-Verbindung der Wuchsstoff ist². Es erhebt sich nun die Frage, ob in diesem Falle für den Aufbau der Desoxyribonucleinsäure (DNS) nur die in dem Desoxyribosid enthaltene Menge Desoxyribose dem Bakterium zur Verfügung steht. Wir haben deshalb den DNS-Gehalt von *Lb. leichmannii*, gewachsen mit und ohne Vitamin B₁₂, geprüft.

Methodik

Stämme: *Lactobacillus leichmannii* 313, *Lactobacillus leichmannii* 4797.

Die Kultivierung der Bakterien und die Zusammensetzung des Nährmediums ist in einer früheren Arbeit beschrieben¹.

Die Bestimmung der Desoxyribonucleinsäure erfolgte nach WEBB und LEVY³, die der Ribonucleinsäure nach WEBB⁴.

Durch Behandeln der getrockneten Bakterien mit 70-proz. Perchlorsäure in der Wärme erhielten wir die Purin- und Pyrimidinbasen. Aus dem Gemisch der Basen wurde Thymin papierchromatographisch abgetrennt und quantitativ bestimmt. Aus der Thyminmenge ließ sich ungefähr der DNS-Gehalt der Bakterien berechnen, wobei sich Übereinstimmung mit der Methode von WEBB und LEVY³ ergab.

In den Tabellen sind die mit *Lb. leichmannii* 313 erhaltenen Ergebnisse aufgeführt. Mit *Lb. leichmannii* 4797 ergab sich das gleiche Bild.

Ergebnisse und Diskussion

Wie aus Tab. 1 hervorgeht, besitzen die verschiedenen Desoxyriboside die gleiche Wuchsstoffaktivität wie Vitamin B₁₂. Bei der Bestimmung der DNS in den Bakterien ergibt sich jedoch ein bedeutender Unterschied. Die mit Vitamin B₁₂ gewachsenen Zellen enthalten ungefähr die vierfache Menge DNS gegenüber den mit Desoxyribosiden gewachsenen, die alle innerhalb der Fehlergrenzen ungefähr den gleichen DNS-Gehalt aufweisen. Die Bestimmung der Ribonucleinsäure (RNS) in den Zellen, mit und ohne Vitamin B₁₂ gewachsen, zeigt diesen auffallenden Unterschied nicht; innerhalb der Fehlergrenzen enthalten alle Bakterien die gleiche Menge RNS.

Im Nährmedium vorhandene Substanzen (Menge/ml)	Trübungswert nach 40 Stdn. Wachstum	DNS mg/100 mg getrocknete Bakterien	RNS mg/100 mg getrocknete Bakterien
Thymindesoxyribosid 1,6 γ	260	0,66	14,1
Adenindesoxyribosid 1,6 γ	260	0,78	13,8
Guanindesoxyribosid 1,6 γ	255	0,78	12,6
Uracildesoxyribosid 1,6 γ	260	0,93	15,9
Cytosindesoxyribosid 1,6 γ	280	0,72	12,3
Vitamin B ₁₂ 10 mγ	290	3,27	11,4

Tab. 1. DNS- und RNS-Gehalt von *Lb. leichmannii* in Anwesenheit verschiedener Desoxyriboside und Vitamin B₁₂. Trübungswert: Ablesung an der Extinktionsskala des lichtelektrischen Kolorimeters nach Lange, Modell IV, (Skalenteile · 1000).

¹ A. WACKER, A. TREBST u. F. WEYGAND, Z. Naturforsch. **11 b**, 7 [1956].

² F. WEYGAND, A. WACKER u. H. DELLWEG, Z. Naturforsch. **7 b**, 156 [1952].

³ J. M. WEBB u. H. B. LEVY, J. biol. Chemistry **213**, 107 [1955].

⁴ J. M. WEBB, J. biol. Chemistry **221**, 635 [1956].

In den Versuchen der Tab. 2a und 2b wurde der DNS-Gehalt der Bakterien in Abhängigkeit von der Wuchsstoff-Konzentration im Nährmedium unter-

Im Nährmedium vorhandene Substanzen (Menge/ml)	Trübungswert nach 40 Stdn. Wachstum	DNS mg/100 mg getrocknete Bakterien
Thymindesoxyribosid 0,8 γ	242	0,63
Thymindesoxyribosid 3,2 γ	320	1,05
Guanindesoxyribosid 0,8 γ	190	0,69
Guanindesoxyribosid 3,2 γ	270	0,90
Vitamin B ₁₂ 10 mγ	310	3,03

Tab. 2a. DNS-Gehalt von *Lb. leichmannii* 313 in Abhängigkeit verschiedener Konzentrationen Thymin- und Guanindesoxyribosid. Trübungswert: s. Tab. 1.

Im Nährmedium vorhandene mγ/ml	Trübungswert nach 40 Stdn. Wachstum	mg/100 mg getrocknete Bakterien	
		DNS	RNS
Vitamin B ₁₂ 1	390	2,2	11,7
„ 10	370	2,2	10,8
„ 100	370	2,4	10,5

Tab. 2b. DNS- und RNS-Gehalt von *Lb. leichmannii* 313 in Abhängigkeit von verschiedenen Konzentrationen Vitamin B₁₂. Trübungswert: s. Tab. 1.

sucht. Während bei Verwendung von 0,8 γ Thymin- bzw. Guanindesoxyribosid pro ml Nährmedium der DNS-Gehalt der Bakterien gegenüber einer Wuchsstoffmenge von 3,2 γ/ml niedriger ist, bewirken unterschiedliche Mengen Vitamin B₁₂ keine Änderung des DNS-Gehaltes der Bakterienzellen. In allen Versuchen enthalten die mit Vitamin B₁₂ gewachsenen Bakterien keine größere Menge RNS.

Tab. 2a zeigt, daß die Bakterien, die mit 3,2 γ Thymin- bzw. Guanindesoxyribosid gewachsen waren, mehr DNS enthalten als die Zellen, denen nur 0,8 γ des Desoxyribosids angeboten wurde. Es war nun interessant zu sehen, ob Desoxyribose oder Desoxyribose-1-phosphat ebenfalls zu einer Vermehrung des DNS-Gehaltes der Bakterienzellen führen würden, obwohl beide Verbindungen keine Wuchsstoffe für *Lb. leichmannii* sind. Wie aus Tab. 3 ersichtlich ist, zeigt nur Desoxyribose-1-phosphat eine Vermehrung der DNS von 0,75 mg-% auf 1,05 mg-Prozent.

Wie aus vorstehenden Ergebnissen deutlich hervorgeht, erhält man mit 1,6 γ eines Desoxyribosids pro ml Nährmedium das gleiche Wachstum wie mit 10 mγ Vitamin B₁₂. Die Gleichwertigkeit aller Des-

Im Nährmedium vorhandene Substanzen (Menge/ml)	Trübungswert nach 62 Stdn. Wachstum	mg/100 mg getrocknete Bakterien	
		DNS	RNS
Guanindesoxyribosid 1,6 γ	272	0,75	13,2
+ Desoxyribose 100 γ	275	0,77	
+ Desoxyribose-1-phosphat 10 γ	270	1,05	
+ Vitamin B ₁₂ 10 mγ	315	3,33	12,6

Tab. 3. DNS- und RNS-Gehalt von *Lb. leichmannii* 313 in Anwesenheit verschiedener Verbindungen. Trübungswert: s. Tab. 1.

oxyriboside als Wuchsstoffe für *Lb. leichmannii* und die Möglichkeit, sie durch eine physiologische Konzentration Vitamin B₁₂ zu ersetzen, lassen darauf schließen, daß Vitamin B₁₂ irgendeine Funktion bei der Biosynthese der Desoxyriboside hat. Die Bestimmung der DNS in den Bakterienzellen, die mit und ohne Vitamin B₁₂ gewachsen waren, ergibt, daß in Anwesenheit eines Desoxyribosids ungefähr die Menge DNS gebildet wird, die als Desoxyribose vorhanden ist. Enthalten z. B. 500 ml Nährmedium 800 γ Thymindesoxyribosid, so stehen den Bakterien ≈440 γ Desoxyribose für die Synthese der DNS zur Verfügung. An getrockneten Zellen erhielten wir aus diesem Versuch 140 mg mit einem DNS-Gehalt von 0,7 mg-Prozent. Unter der Annahme, daß das im Medium vorhandene Thymindesoxyribosid vollständig aufgenommen wurde, wäre somit die DNS aus der angebotenen Desoxyribose entstanden.

Man kann annehmen, daß Vitamin B₁₂ keine Funktion bei der *N*-Transglykosidierung der Desoxyriboside hat⁵, ebenfalls auch nicht bei der Biosynthese der Purine und Pyrimidine. Wie wir nun kürzlich zeigen konnten, werden die Desoxyriboside (bei *Lb. leichmannii** und *B. coli* 113-3)⁶ nicht aus den Ribosiden gebildet. Es sei noch erwähnt, daß bei *B. coli* 113-3, einem Stamm, bei dem man Vitamin B₁₂ als Wuchsstoff durch *Methionin* ersetzen kann, in den mit und ohne Vitamin B₁₂ gewachsenen Zellen kein Unterschied im DNS-Gehalt zu finden ist.

Die von uns mitgeteilten Ergebnisse sind nun in zweierlei Hinsicht von Bedeutung:

1. Der DNS-Gehalt einer Bakterienzelle kann großen Schwankungen unterliegen, ohne daß sich hierdurch die Eigenschaften des Bakteriums ändern⁷.

⁵ E. RACKER, J. biol. Chemistry **196**, 347 [1952].

* Unveröffentlichte Ergebnisse.

⁶ A. WACKER u. D. PFAHL, Z. Naturforschg. **12b**, 506 [1957].

⁷ Vgl. hierzu: D. V. REGE u. A. SREENIVASAN, J. biol. Chemistry **210**, 373 [1954]; M. DOWNING u. B. S. SCHWEIGERT, **220**, 521 [1956].

Durch den Einbau von 5-Bromuracil in die DNS verschiedener Bakterien kamen wir zu der Ansicht, daß es zwei Arten von DNS gibt⁸. Die durch Vitamin B₁₂ mehr gebildete DNS könnte eventuell eine Reserve-DNS sein.

2. Es sind Beziehungen zwischen der Biosynthese der DNS, bzw. einer Desoxyribose-Verbindung und dem Vitamin B₁₂ vorhanden. Die von Vitamin B₁₂ gebildete Desoxyribose-Verbindung könnte große

Ähnlichkeit mit Desoxyribose-1-phosphat haben, wie der Einfluß von Desoxyribose-1-phosphat auf den DNS-Gehalt der Bakterienzelle zeigt.

Herrn Professor Dr. F. WEYGAND und der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für die Unterstützung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

⁸ A. WACKER, A. TREBST, D. JACHERTS u. F. WEYGAND, Z. Naturforsch. **9 b**, 616 [1954].

Flüssige Kristalle und Molekelbau VI

Konstitutionseinfluß auf Schmelzpunkt und Klärpunkt kristallin-flüssiger Verbindungen

Von CHRISTIAN WIEGAND

Aus den Farbenfabriken Bayer, Wuppertal-Elberfeld
(Z. Naturforsch. **12 b**, 512—513 [1957]; eingegangen am 5. April 1957)

Am Beispiel der kristallin-flüssigen Azomethine wird der bestimmende Einfluß der Molekelenden auf die Lage des Klärpunktes nachgewiesen.

Für die Molekularstruktur der anisotropen, flüssigen Phase kristallin-flüssiger Verbindungen wird die von BOSE¹ inaugurierte parallele Anordnung der Molekeln in den Elementargebieten heute allgemein als gültig angenommen. Dieses Ordnungsprinzip wird durch den langgestreckten, ebenen Bau der kristallin-flüssigen Moll. besonders begünstigt. Bei den dünnflüssigen Pl-Formen VORLÄNDERS (nematische Phase FRIEDEL'S) sollen die einzelnen parallel liegenden Moll. noch gegeneinander verschiebbar sein; sie sind es hingegen nicht mehr bei den zähflüssigen Bz-Formen VORLÄNDERS (smektische Phase FRIEDEL'S). Diese Annahme wird u. a. gestützt durch die Viskositäts-Untersuchungen und die Röntgenstrahlen-Analyse².

Während beim Schmelzvorgang normalerweise die im Kristall vorhandene Ordnung praktisch momentan aufgehoben wird, und so eine anisotrope, kristallin-feste Phase schlagartig in die isotrop-flüssige übergeht, ist dies bei den kristallin-flüssigen Substanzen nicht der Fall. Hier bleibt beim Schmelzvorgang in den Elementarbereichen der flüssigen Phase noch die vorstehend geschilderte parallele Anordnung der Moll. in den Elementarbereichen erhalten, und die flüssige Phase ist nicht sofort isotrop,

sondern wird es erst beim Klärpunkt. Wie die Röntgen-Untersuchungen ergeben haben, besitzt die Bz-Form gegenüber der Pl-Form die höhere Nahordnung³. Es ist daher verständlich, daß beim Auftreten beider Formen während des Schmelzprozesses stets zunächst die Bz-Form anfällt, und anschließend die Umwandlung in die Pl-Form sich manifestiert; nie aber umgekehrt.

Diese Nahordnung der Moll. in den Elementarbereichen der flüssigen anisotropen Phase wird, wie VORLÄNDER und WEYGAND⁴ annehmen, durch zwischenmolekulare Kräfte aufrecht erhalten, die an den Enden der ebenen und langgestreckten Moll. auftreten und infolgedessen in ihrer Wirkung vorwiegend durch die Art der End- oder Flügelgruppen bestimmt werden. So wird z. B. die Ausbildung kristallin-flüssiger Phasen durch Alkoxygruppen an den Moll.-Enden besonders begünstigt.

Bei den im folgenden beschriebenen Substanzen konnte ein eigenartiges Verhalten bezüglich der Schmelzpunkt- und Klärpunkttemperaturen festgestellt werden. Kondensiert man Terephthalaldehyd mit *p*-substituierten Anilinderivaten, so erhält man in glatter Reaktion Bis-azomethin-Verbindungen folgender Konstitution (I):

¹ E. BOSE, Physikal. Z. **8**, 513 [1907]; **9**, 708 [1908]; **10**, 230 [1909].

² W. KAST, Angew. Chem. **67**, 592 [1955].

³ CHR. WIEGAND, Charakterisierung und Untersuchungsmethoden flüssiger Krystalle in: HOUBEN-WEYL, Methoden der Organ. Chemie, 4. Aufl. Bd. III/1, S. 681; Stuttgart 1955.

⁴ C. WEYGAND, Chemische Morphologie der Flüssigkeiten und Kristalle in: EUCKEN-WOLF, Hand- u. Jahrbuch der Chem. Physik, Bd. 2, Abschnitt III C, Leipzig 1941.