

## KURZMITTEILUNG

**Charakterisierung einer Trypsin-ähnlichen Proteinase (Akrosin) aus Eberspermien durch ihre Hemmbarkeit mit verschiedenen Protein-Proteinase-Inhibitoren, III<sup>[1]</sup>****Inhibitoren aus Bauchspeicheldrüsen***Hans Fritz\**, *Hans Schießler\*\**, *Bruni Förg-Brey\**, *Harald Tschesche\*\** und *Edwin Fink\**

(Der Schriftleitung zugegangen am 31. Mai 1972)

*Characterization of a trypsin-like proteinase (acrosin) from boar spermatozoa by inhibition with different protein proteinase inhibitors, III: Inhibitors from pancreas glands***Summary:** The trypsin-“specific“ inhibitors from ovine, bovine, and porcine pancreas glands are inhibitors for boar acrosin, too. Obviously, the structures of the

reactive sites of pancreatic trypsin and acrosomal sperm acrosin are very similar.

Aus den Ergebnissen der voranstehenden Arbeiten<sup>[1,2]</sup> geht hervor, daß die akrosomale Trypsin-ähnliche Proteinase aus Eberspermien von einer Vielzahl von Trypsininhibitoren gehemmt wird, die sich sowohl in ihren Hemmspektren als auch ihrer Herkunft nach wesentlich unterscheiden. Abgesehen vom Trypsin-inhibitor aus Meerschweinchensamenblasen<sup>[1]</sup>, inhibieren die bisher zu den Hemmversuchen eingesetzten Protein-Proteinase-Inhibitoren zumeist auch Plasmin sowie Chymotrypsin und Kallikreine; sie besitzen also ein mehr oder weniger „breites“ Hemmspektrum und lassen sich somit nach einem Vorschlag von M. Laszkowski, Jr.<sup>[3]</sup> als „broad specificity inhibitors“ (Breit-spezifität-Inhibitoren) klassifizieren. Die Trypsininhibitoren aus Bauchspeicheldrüsen sind demgegenüber nach allen bisher bekannt gewordenen Untersuchungen<sup>[4–7]</sup> nur zur Komplexbildung mit Trypsin befähigt und wurden von uns deshalb als Trypsin-spezifische

Inhibitoren bezeichnet<sup>[4,7]</sup>. Im Rahmen unserer Arbeiten über die Hemmspezifität des Eber-Akrosins war es daher besonders interessant zu prüfen, ob die Trypsin-spezifischen Pankreas-Inhibitoren auch zur Komplexbildung mit den Akrosinen befähigt sind.

**Material und Methodik**

*Verwendete Substanzen:* Trypsininhibitor aus Schafspankreas<sup>[7,8]</sup>, 4,2 IU/mg; Trypsininhibitor aus Schweinepankreas<sup>[4,7]</sup>, 3,6 IU/mg; Trypsininhibitor aus Hundepankreas<sup>[7]</sup>, 3,5 IU/mg.

*Meßmethodik:* Die Titration des Akrosins erfolgte nach den Angaben in l. c.<sup>[2]</sup>

**Ergebnisse und Diskussion**

Die bei der Titration des Akrosins mit den Trypsin-inhibitoren aus Bauchspeicheldrüsen erhaltenen Hemmkurven sind in der Abbildung dargestellt. Die Affinität

*Adressen:*

\* PD Dr. H. Fritz, Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie der Universität München, D-8 München 2, Nußbaumstr. 20.

\*\* PD Dr. H. Tschesche, Lehrstuhl für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität, D-8 München 2, Arcisstr.

<sup>1</sup> II. Mitteilung dieser Reihe: Fritz, H., Förg-Brey, B., Schießler, H., Arnhold, M. & Fink, E. (1972) *diese Z.* **353**, 1010–1012, vorstehend.

<sup>2</sup> I. Mitteilung dieser Reihe: Fritz, H., Förg-Brey, B., Fink, E., Schießler, H., Jaumann, E. & Arnhold, M. (1972) *diese Z.* **353**, 1007–1009.

<sup>3</sup> Letter to the author from March 16th, 1972.

<sup>4</sup> Fritz, H., Hüller, I., Wiedemann, M. & Werle, E. (1967), *diese Z.* **348**, 405–418.

<sup>5</sup> Burck, P. J., Hamill, R. L., Cerwinsky, E. W. & Grinnan, E. L. (1967) *Biochemistry* **6**, 3180–3184.

<sup>6</sup> Greene, L. J., DiCarlo, J. J., Sussman, A. J. & Bartelt, D. C. (1968) *J. Biol. Chem.* **243**, 1804–1815; Greene, L. J., Rigbi, M. & Fackre, D. S. (1966) *J. Biol. Chem.* **241**, 5610–5618; Greene, L. J. & Pubols, M. H. (1971) in l. c.<sup>[7]</sup>, S. 196–200.

<sup>7</sup> Tschesche, H., Wachter, E., Kupfer, S., Obermeier, R., Reidel, G., Haenisch, G. & Schneider, M. (1971) in Proc. Int. Res. Conf. on Proteinase Inhibitors (Fritz, H. & Tschesche, H., Hrsg.) S. 207–222, W. de Gruyter, Berlin.

<sup>8</sup> Fritz, H., Schramm, W., Greif, B., Hochstraßer, K., Fink, E. & Werle, E. (1970) *diese Z.* **351**, 145–150.

des Trypsininhibitors aus Schafspankreas zum Akrosin ist vergleichbar mit der der Inhibitoren aus Meer-schweinchensamenblasen (Abb. 1 in l. c.<sup>[2]</sup>). Die Affinität der Trypsininhibitoren aus Schweine- und Hundepankreas zum Akrosin ist wahrscheinlich aufgrund speziesbedingter Strukturunterschiede zwar deutlich geringer, die Bildung von Akrosin-Inhibitor-Komplexen geht jedoch aus den Titrationskurven eindeutig hervor. Dies spricht für das Vorliegen einer noch engeren Verwandtschaft hinsichtlich der Hemm- und Spaltungsspezifität zwischen Trypsin und Akrosin als z. B. zwischen Trypsin und Plasmin. Vor allem die Analogie in der Struktur der Substrathaftstellen von Trypsin und Akrosin dürfte deshalb sehr groß sein. Infolge speziesbedingter Strukturunterschiede werden zwar die Akrosine verschiedener Spezies sich in ihrer Affinität zu den verschiedenen Pankreas-Inhibitoren graduell unterscheiden, es ist jedoch sehr wahrscheinlich, daß die aufgrund der Ergebnisse in dieser und den beiden voranstehenden Arbeiten<sup>[1,2]</sup> gemachten Aussagen allgemeine Gültigkeit besitzen. Zu klären bleibt die genetische Ursache der Verwandtschaft zwischen Pankreas-Trypsin und Spermien-Akrosin.

Ein weiteres Resultat dieser Arbeit ist die nun notwendige Revision unserer Ansicht über die Hemmspezifität der Pankreas-Inhibitoren. Da sie außer den ihnen aus physiologischer Sicht her zugeordneten Trypsinen auch Akrosine (und eine Proinsulin in Insulin überführende Pankreas-Proteinase<sup>[9]</sup>) hemmen, ist Voraussetzung für die Hemmbarkeit anscheinend nur eine genügend große Ähnlichkeit der aktiven Zentren der betreffenden Enzyme. Dies gilt auch in umgekehrtem Sinne für die reaktiven Bereiche der Inhibitoren.

Mit Mitteln des *Sonderforschungsbereiches 51*, München, finanziert. Herrn Prof. Dr. Dr. E. Werle sind wir für die Unterstützung dieser Arbeit sehr dankbar.

<sup>9</sup> Yip, C. C. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **68**, 1312–1315.

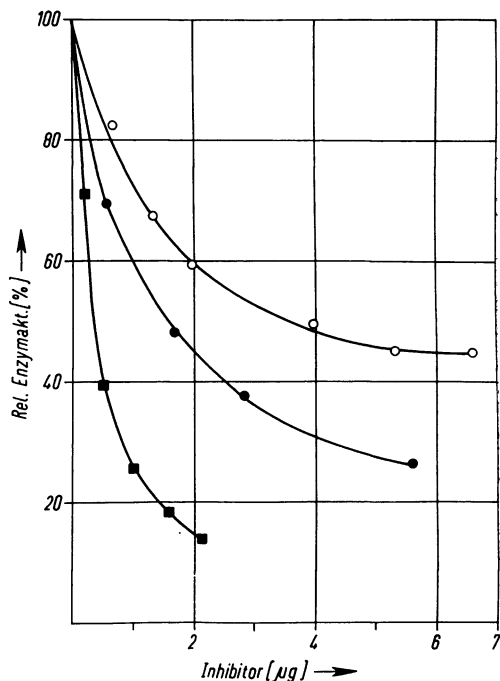


Abbildung. Titration von Eber-Akrosin mit Trypsin-“spezifischen“ Inhibitoren aus Bauchspeicheldrüsen.

Symbol	Inhibitor aus	Inkubiert* [min]
■	Schafspankreas	30
●	Schweinepankreas	30
○	Hundepankreas	30

\* Inkubationszeit (Akrosin plus Inhibitor) vor Zugabe des Substrates. Meßbedingungen s. Material und Methodik in l. c.<sup>[2]</sup>.