

Physiologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-
Universität zu Münster i. Westf.
(Direktor: Professor Dr. Dr. R. Rosemann.)

Über Teilchengewichte von Muskeleiweißkörpern und das van der Waalssche Wirkungsvolumen der Myogenteilchen.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität
zu Münster (Westf.)

Vorgelegt von

Richard Stöver
aus Münster (Westf.)

Sonderabdruck aus: Biochemische Zeitschrift,
Bd. 259, 4.-6. Heft.

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1933

**Dekan: Professor Dr. Esch.
Referent: Professor Dr. H. H. Weber.
Korreferent: Professor Dr. Dr. R. Rosemann.**

**Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. Westf.**

ISBN 978-3-662-28053-9
DOI 10.1007/978-3-662-29561-8

ISBN 978-3-662-29561-8 (eBook)

Über Teilchengewichte von Muskeleiweißkörpern und das van der Waalsche Wirkungsvolumen der Myogenteilchen.

Von
Richard Stöver.

(Aus dem physiologischen Institut der Westfälischen Wilhelmsuniversität
Münster.)

(Eingegangen am 19. Januar 1933.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

I. Die Zustandsgleichung von Eiweißlösungen.

Es wird allgemein angenommen, daß die Verknüpfung zwischen Stoffwechsel und Struktur der Gewebe sich an den ultramikroskopischen Bausteinen der Struktur, d. h. an den einzelnen Kolloidteilchen (Kolloidmolekülen und Kolloidmicellen) abspielt. Die Prüfung dieser Annahme und darüber hinaus ein Einblick in dieses Zusammenspiel setzt also die Kenntnis des kolloidalen Feinbaues der Gewebe — jenseits des mikroskopischen Feinbaues — voraus.

Soll festgestellt werden, wie der Betriebsstoffwechsel des Muskels zu jenem Umbau der Struktur führt, den wir als Kontraktion bezeichnen, so muß vorher bekannt sein, in welcher Weise der Muskel aus seinen kolloidalen Bausteinen zusammengesetzt ist. Kardinalgrößen der Morphologie des Kolloidteilchens sind das Teilchengewicht und die Raumerfüllung des Teilchens (das Wirkungsvolumen). Die Teilchen, für die die Bestimmung dieser Größen in Frage kommt, sind die Teilchen der Myogen- und der Myosinfraktion des Muskels, denn der Muskel besteht im wesentlichen aus Myogen und Myosin¹.

Die Bestimmung des Teilchengewichtes gelöster Substanzen erfolgt im allgemeinen durch Messung ihres osmotischen Druckes. Der osmotische

¹ Vgl. *H. H. Weber*, Ber. ü. d. ges. Physiol. **61**, 382, 1931 und auch *K. Meyer* u. *H. H. Weber*, erscheint demnächst diese Zeitschr.

Druck und das Molekulargewicht sind aber durch die „ideale“ Zustandsgleichung der Gase und Lösungen verbunden:

$$p \cdot V = \frac{g}{M} \cdot R \cdot T,$$

$$M = \frac{g}{p \cdot V} \cdot R T = \frac{C}{p} \cdot R T \quad (1)$$

p = osmotischer Druck, V = Volumen der Lösung, g = Gramm Substanz, M = Molekulargewicht, $C = g/V$ = Konzentration, $R T$ = osmotische Energie eines Grammoleküls bei der Temperatur T .

Durch Gleichung (1) ist also das Molekulargewicht aus osmotischen Messungen einer idealen Lösung zu errechnen. Eiweißlösungen genau meßbaren osmotischen Druckes sind aber infolge ihres hohen Teilchen-(Molekular-) Gewichtes nicht „ideale“, sondern konzentrierte Lösungen. Infolgedessen gilt im Meßbereich die *van der Waalssche* Zustandsgleichung¹ in der Form²

$$p \cdot (V - b) = p (V - gs) = g/M \cdot R T. \quad (2)$$

b = Wirkungsvolumen, $s = \frac{b}{g}$ = spezifisches Wirkungsvolumen, sonst wie in (1).

Wird trotzdem aus einem gemessenen osmotischen Druck einer konzentrierten Eiweißlösung (von 1% an aufwärts) das Molekulargewicht nach der „idealen“ Gleichung (1) berechnet, so werden oft unzutreffende Werte erhalten: *Sörensen*³ hat so für Serumalbumin das Molekulargewicht 45000 erhalten, *Adair*⁴ errechnete aus denselben Messungen *Sörensens* unter Berücksichtigung der *van der Waalsschen* Beziehung das auch mit ganz anderen Methoden⁵ als zutreffend bewiesene Molekulargewicht von etwa 70000.

Die *van der Waalssche* Zustandsgleichung enthält zwei Unbekannte: das Molekulargewicht und die Raumbeanspruchung durch die gelöste Substanz; infolgedessen ist keine der beiden Unbekannten aus der osmotischen Messung einer einzigen Eiweißkonzentration zu errechnen. Liegt dagegen eine Messungsreihe von verschiedenen Eiweißkonzentra-

¹ *G. S. Adair*, Proc. Roy. Soc. London **120**, 573, 1928; *G. S. Adair* u. *M. E. Robinson*, Biochem. J. **24**, 1864, 1930; *N. F. Burk*, J. of biol. Chem. **98**, 353, 1932; *G. V. Schulz*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **158**, 237, 1932; **161**, 441, 1932; *Kunitz*, J. gen. Physiol. **10**, 811, 1927.

² Das a -Glieder der *van der Waalsschen* Gleichung, das den Anziehungskräften der Gas- oder gelösten Teilchen Rechnung trägt, fällt in Lösungen im allgemeinen fort, weil diese *van der Waalsschen* Kräfte hier offenbar durch Bindung (Adsorption) von Lösungsmittel abgesättigt sind.

³ *S. P. L. Sörensen*, Proteins, The Fleischmann Co., New York 1925.

⁴ *G. S. Adair* u. *M. E. Robinson*, l. c.

⁵ *T. Svedberg* u. *B. Sjögren*, J. Amer. Chem. Soc. **50**, 3318, 1928; *G. S. Adair* u. *M. E. Robinson*, l. c.; *N. F. Burk*, l. c.

tionen vor, dann kann aus dem Gültigkeitsbereich der *van der Waals*-schen Beziehung in den sicheren Gültigkeitsbereich der „idealen“ Gleichung, d. h. auf die Eiweißkonzentration Null extrapoliert werden. Ist das Verhältnis C/p für die Konzentration Null durch die Extrapolation bekannt, so ist das Teilchengewicht M nach Gleichung (1) berechenbar. Dann ergibt sich b — die Raumerfüllung durch das gesamte Eiweiß — und s — die Raumbeanspruchung durch 1 g Eiweiß — aus der *van der Waals*-schen Gleichung¹.

Diese Extrapolation ist graphisch in jedem Falle durchführbar. C/p (Ordinate) wird als Funktion von C (Abszisse) im gemessenen Bereich aufgetragen und die Kurve bis zum Schnittpunkt mit der Ordinate ($C = 0$) verlängert. Die Extrapolation ist frei von jeder Willkür, wenn die C/p -Kurve eine gerade Linie ist.

Das ist immer dann der Fall, wenn das spezifische Wirkungsvolumen s , die Raumbeanspruchung durch 1 g Eiweiß, bei allen Eiweißkonzentrationen dieselbe ist. Die *van der Waals*-sche Zustandsgleichung läßt sich nämlich leicht in die Form

$$\frac{C}{p} = \frac{M}{RT} - \frac{M \cdot s}{RT} \cdot C$$

bringen, wenn man berücksichtigt, daß $g/V = C$ ist. Das aber ist die Gleichung einer Geraden, die die Ordinate ($C = 0$) in M/RT und die Abszisse ($C/p = 0$) in $1/s$ schneidet, wodurch $1/s$ und damit s unmittelbar abzulesen ist.

Die Gültigkeit der *van der Waals*-schen Beziehung gibt außer dem Teilchengewicht das für die Morphologie der Teilchen unmittelbar wichtige und außerdem vielseitig verwendbare Teilchenvolumen². Sie verlangt sehr erhebliche experimentelle Genauigkeit, damit die Richtung der C/p -Kurve, in der Fehler von C vielfach vergrößert erscheinen, für die erforderliche weite Extrapolation genügend sicher festgelegt ist.

II. Die Osmometertechnik.

Die Fehler bei osmotischen Eiweißmessungen und ihre Vermeidung sind bei *Adair*³ ausgezeichnet beschrieben. In Anlehnung an *Adair* wird hier Wert gelegt:

1. Auf große Ausschläge zur Erhöhung der Ablesegenauigkeit: Verwendung von geraden Osmometern (Abb. 1) mit flüssigem Paraffinöl vom spezifischen Gewicht 0,885 als Manometerflüssigkeit. Nur in zwei Versuchen mit hoher Myogenkonzentration (11,19 und 11,31 %) wurde Hg in einem U-Manometer angewandt.

2. Auf genaue Bestimmung der Druckdifferenz innen und außen: Das Osmometer wurde genau bis zum Nullpunkt der Manometerskala (maximaler Fehler etwa 0,5 mm) in die Außenlösung versenkt. Der Meniskus

¹ Z. B. bequeme Formeln: *Adair*, Biochem. J. **24**, 1864, 1930.

² *G. V. Schulz*, Zeitschr. f. physik. Chem. **158**, 237, 1932; **160**, 409, 1932; **161**, 441, 1932.

³ *G. S. Adair*, Proc. Roy. Soc. London **108**, 629, 1925.

der Innenlösung war bei einer lichten Kapillarweite von 1,2 mm auf 0,25 mm genau ablesbar; der maximale Gesamtablesefehler der Differenz ist also etwa 1 mm der Druckdifferenz (1 mm Paraffinöl \sim 0,065 mm Hg).

3. Auf genaue Korrektur der Druckdifferenz: Die Kapillaritätskonstante für flüssiges Paraffin wurde für jedes Osmometer gesondert bestimmt. Je nach dem Osmometer 7 bis 8 mm Paraffinöl. Da im Versuch die Grenze zwischen Paraffinöl und Eiweißlösung (*G*, Abb. 1) im Osmometer unter dem Meniskus des Außenbades liegt, findet ein hydrostatischer Auftrieb des leichten Paraffinöls von $t/d_p - t$ statt (t = Niveaudifferenz Paraffin—Wasser, d_p = Dichte des Paraffins). Je nach Eintauchtiefe betrug diese Korrektur 3 bis 4 mm Paraffinöl = 0,19 bis 0,26 mm Hg. Ein Fehler von 1 mm bei der Messung der Eintauchtiefe (0—*G*, Abb. 1) bedeutet einen Fehler von 0,13 mm Öl = 0,01 mm Hg.

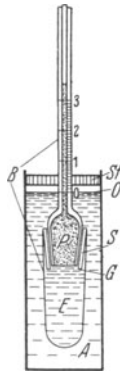


Abb. 1. Osmometeranordnung.

A = Außenlösung, *B* = Osmometer, *ST* = Korkstopfen, 0—1—2—3 = Millimetereinteilung des Steigrohres, *S* = gefetteter Schliff zwischen Steigrohrkuppel und Glasmanschette des Manometers, *E* = Eiweißlösung, *P* = Paraffinöl, *G* = Grenze zwischen *P* und *E* = unterer Rand der Glasmanschette. *O* = Nullpunkt der Millimetereinteilung der Kapillare.

4. Auf Vermeidung falscher Gleichgewichte: Den Gleichgewichtsdruck läßt man in demselben Versuch mehrfach abwechselnd von oben und unten erreichen (Abb. 2). Außerdem wurde durch Verwendung gerader Steigrohren die Reibungsfläche der Manometerflüssigkeit möglichst klein gehalten.

5. Auf möglichst schnelle Einstellung des Gleichgewichtsdruckes: Dies ist wünschenswert, um die außerordentlich langen Versuchszeiten *Adairs* infolge der wiederholten Neueinstellung des Druckes (s. oben) zu vermeiden. Denn die Konzentration der Myogenlösungen nimmt dauernd, wenn auch sehr langsam (s. Kap. 3), durch Myogenfibrinbildung ab. Deshalb wurde die Osmometermembran im Verhältnis zum Füllungsvolumen möglichst groß gehalten: Osmometerhülsen von nur 2,5 bis 3,0 ccm Inhalt, Füllung des Steigrohres und der Osmometerkuppel mit flüssigem Paraffin statt mit Eiweißlösung bis zum unteren Rande der Glasmanschette (*G*, Abb. 1), auf die der Kollodiumsack nach *H. H. Weber*¹ aufgeklebt ist. Möglichst kristalloiddurchgängige Membran, die außerdem notwendig ist für

6. Die Einstellung eines ausschließlich kolloidosmotisch bedingten Gleichgewichtsdruckes: Da die Myogenpräparate immer ganz geringe Mengen (s. Kap. 3) Rest-N-Substanzen unbekanntes, möglicherweise nicht ganz niedrigen Molekulargewichtes enthalten und auch während des Versuchs bilden, müssen die Membranen auch für Kristalloide hohen Molekular-

¹ Diese Zeitschr. 158, 443, 1925.

gewichtetes (etwa 1000) glatt durchgängig sein. Die Membran wird auf Eiweiß- und durchgängigkeit durch Sulfosalicylsäureprobe außen, auf sonst möglichst hohe Durchgängigkeit mit Erioglaucin (Mindestmolekulargewicht 800) geprüft. Bei Füllung mit 2,6 %iger Erioglaucinlösung mußte im Laufe der ersten Stunde außen Blaufärbung auftreten und der maximale osmotische Druck nach wenigen Stunden erreicht sein. Dieser durfte 2 bis 3% des theoretischen Druckes, der bei erioglaucinundurchgängiger Membran hätte auftreten müssen, nicht überschreiten, eben infolge der Erioglaucin-durchgängigkeit der Osmometermembran; schließlich mußte Ausgleich der Konzentration und der osmotischen Druckdifferenz in 1 bis 2 Tagen praktisch vollständig sein. Gegen solche Osmometermembranen gibt das Filtrat einer mit Sulfosalicylsäure enteiweißten Myogenlösung, auf 8 mg-% Rest-N eingeeengt, den osmotischen Druck 0. Ein Rest-N-Gehalt von

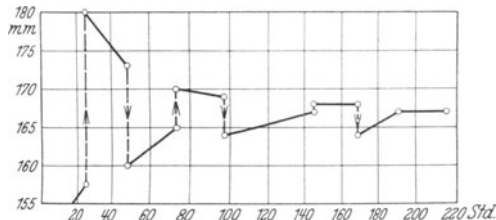


Abb. 2.

Beispiel der Einstellung des wahren osmotischen Druckes.

Ordinate: Druck in Millimeter Paraffinöl. Abszisse: Zeit in Stunden. —: Spontangeb. bewegungen. ---: Neueinstellungen des Osmometermeniskus. Gleichgewichtsdruck 167 bis 168 mm.

8 mg-% ist aber mehrfach größer als der der gereinigten Myogenlösungen (vgl. S. 275). Das Fehlen von Eiweißzersetzung wurde durch Sulfosalicylsäure-, Xanthoproteinprobe und häufige Rest-N-Bestimmung in der Außenflüssigkeit geprüft.

7. Vermeidung der „Donnan-Korrekturen“¹: Eine isoelektrische (p_H 6,3) 4,5 %ige Myogenlösung gibt in 0,005 bis 0,5 mol. KCl immer den gleichen osmotischen Druck (Donnan-Korrektur = 0); infolgedessen wurde bei p_H 6,3 in 0,005 bis 0,01 mol. Phosphat gemessen.

8. Eiweißzersetzung: Versuchstemperatur im Winter 2°, im Sommer 4° C (elektrischer Kälteschrank). Die Eiweiß- und Außenlösungen waren toluolgesättigt, die Außenlösung mit einem Toluolfilm überdeckt; das ganze System gegen Bakterienfall und Verdunstung geschlossen (Abb. 1).

9. Fehlerfreie Feststellung der osmotisch wirksamen Eiweißkonzentration: Um die Konzentrationsänderungen, die in allerdings wohl nur minimalem Umfang² in den ersten Stunden des Versuchs durch Adsorption an die Membran stattfinden könnten, bei der Berechnung zu umgehen, wurde die Konzentration am Schluß jeden Versuchs bestimmt.

Es bleibt also die Ungenauigkeit in der Bestimmung des osmotischen Druckes unter 2 mm Paraffinöl, 0,13 mm Hg.

¹ J. Loeb, Die Eiweißkörper. Berlin, Verlag Springer, 1924.

² P. Rona u. E. Mislowitz, diese Zeitschr. 196, 197, 1928; 200, 152, 1928; 202, 453, 1928; G. S. Adair, Proc. Roy. Soc. London 108, 627, 1925.

III. Muskelpreßsaft und Myogenpräparate.

Die Darstellung der reinen Myogenlösungen erfolgte in früher beschriebener Weise¹ aus Muskelpreßsaft durch vier- bis achttägige Dialyse bei 0 bis 4° C und etwa zehnstündige Elektrodialyse bei Zimmertemperatur. Es wurde dann aber, im Anschluß an die Elektrodialyse, die Myogenkonzentration durch Vakuumdestillation bei einer Temperatur unter 20° auf 6 bis 12 % Myogen eingengt und nochmals 1 bis 2 Wochen nachdialysiert (zur Entfernung des Rest-N, der sich bei der Einengung anreichert).

Die Überwachung der Präparation fand durch Leitfähigkeits- und p_H -Messungen, durch *Kjeldahl*-Bestimmungen des Gesamt-N in Anlehnung an *Bang* statt. Es erwies sich dabei, daß es bei den Mikro-*Kjeldahl*-Bestimmungen besser ist, die Veraschungen gleichzeitig mit einem Leerwert im ammoniakfreien Raum auf mindestens 4 Stunden auszudehnen, da sonst die notwendig sehr kurze Überführung unvollständig wird (schwerer flüchtige Amine statt Ammoniak?). Außerdem wurde die Überführungszeit auf 5 Minuten vom Anschluß des Kochkolbens an ausgedehnt. Die Vorlagevolumina waren dann immer noch klein genug zu einwandfreier jodometrischer Titration. Die Enteiweißung erfolgte durch Zugabe von 5 Teilen 96%igen Alkohols auf 1 Teil Eiweißlösung. Bei der Sulfosalicylsäurefällung spaltet sich Rest-N ab, bei der Fällung mit kolloidalem Eisen nach Rona wird dagegen präformierter Rest-N adsorbiert, wie sich an rest-N-haltigem Filtrat vorher durch Sulfosalicylsäure enteiweißter Myogenlösungen ergab. Der Rest-N-Gehalt nach Enteiweißung durch Kochen ist bei weitem am höchsten, es folgt die Enteiweißung durch Sulfosalicylsäure, durch Alkohol und schließlich durch kolloidales Eisen. Ob kleine Rest-N-Mengen auch bei der Enteiweißung durch Alkohol neu entstehen, bleibt zweifelhaft.

Die Zusammensetzung des Preßsaftes nach Eiweiß-N und Rest-N geht aus der Tabelle I hervor.

Tabelle I.

com	p_H	Gesamt-N-Gehalt der Lösung mg-%	Rest-N-Gehalt mg-%	%-Zahl des im Gesamt-N als Rest-N vorhandenen N
219	6,0	1408	395	28
244	6,0	1254	365	29
319	6,0	1273	345	27
207	5,9	1127	352	31

Da der Preßsaft einfach aus den zerschnittenen Muskelfasern mechanisch herausgedrückt wird, ist anzunehmen, daß er die Zusammensetzung des Faserinhaltes, soweit er flüssig ist, unverändert wiedergibt. Damit stimmt überein, daß der durchschnittliche Rest-N-Gehalt des Preßsaftes von 0,364 % fast derselbe ist wie der Rest-N-

¹ H. H. Weber, diese Zeitschr. 158, 443, 1925.

Gehalt des Warmblütermuskels¹ von durchschnittlich 0,39%*. Damit stimmt ferner überein, daß nach unveröffentlichten Versuchen² kein Myosin in den Preßsaft übergeht, da dieses infolge seiner Unlöslichkeit in physiologischer Salzlösung³ im Muskel nur im Gelzustand vorkommt. Damit stimmt schließlich überein, daß das Verhältnis von Rest-N zu Eiweiß-N (letzte Spalte der Tabelle I) auch dann ungefähr gleich bleibt, wenn der Gesamt-N deutliche Konzentrationsverschiedenheiten zeigt (vgl. Versuche 1 und 4 der Tabelle I): Der geringe Einfluß der Durchspülungsödeme ist offenbar für Eiweiß- und Rest-N-Konzentration gleich. Es ist also anzunehmen, daß die Eiweiß-N-Konzentration des Preßsaffes mit der löslichen Eiweiß-N-Konzentration des Sarkoplasmas ungefähr übereinstimmt. Außer Myogen sind aber weitere Eiweißkörper im Preßsaft nur in Spuren (s. unten) aufzufinden. Das Sarkoplasma enthält demnach etwa 7% Myogen.

Die gereinigten Myogenpräparate sind frei von Kristalloiden; die spezifische Leitfähigkeit beträgt etwa $1 \cdot 10^{-5}$. Sie sind fast frei von Rest-N. Rest-N-Konzentration 0,0006 bis 0,0041% N oder aber 0,07 bis 0,6% des Eiweiß-N.

Sie enthalten kein Myosin, da etwaige letzte Spuren — mehr kommt nicht in Frage (s. oben, Preßsaft) — bei dem vollständigen Salzzug durch die Dialyse und Elektrodialyse ausgefallen sein müßten. Ein erst kürzlich entdecktes Globulin unklarer Bedeutung⁴ scheint ebenfalls restlos während der Dialyse auszufallen, da es nur aus den ersten Dialyseniederschlägen isoliert werden kann. Außerdem scheint es nur in einer zu vernachlässigenden Menge von wenigen Prozenten des Gesamteiweiß-N vorzukommen. Sehr geringe Beimengungen von Serumalbumin, die nicht sicher auszuschließen sind⁵, würden schon deshalb keinen Einfluß auf den osmotischen Druck haben, weil das Molekulargewicht von Myogen und Serumalbumin fast dasselbe ist.

Es erhebt sich nun die Frage, wie weit die Eiweißteilchen im Myogenpräparat dieselben sind wie im Muskel; denn Sørensen hat auf Grund sehr umfassenden Materials die Meinung ausgesprochen, daß präparativ gereinigte Eiweißkörper ganz etwas anderes sein könnten

¹ Daß der Rest-N-Wert des Muskelpreßsaffes etwas niedriger ist als der des Muskels — er sollte etwas höher zu erwarten sein, weil im Muskel mit seiner nicht unbeträchtlichen Eiweißkonzentration ein nichtlösender Raum existiert — beruht auf der beträchtlichen Ödembildung infolge der Gefäßdurchspülung.

* O. V. Fürth, Handb. d. Biochem., 2. Aufl., 4, 345, Jena 1925.

² H. H. Weber, erscheint demnächst in dieser Zeitschr.

³ J. V. Edsall, J. of biol. Chem. 89, 289, 1930.

⁴ H. H. Weber, unveröffentlichte Versuche, erscheint demnächst in dieser Zeitschr.

⁵ Derselbe, diese Zeitschr. 189, 407, 1927.

als die Proteine im lebenden Organismus. Sie seien aus dissoziablen Komponenten zusammengesetzt, die bei den chemischen Eingriffen der Reinigung (Änderungen des Salzgehaltes, des p_H usw.) dissoziierten und in anderen Kombinationen wieder zusammenträten als vorher. Bei dem mechanischen Herauspressen des flüssigen Muskelinhaltes fehlen die vorausgesetzten chemischen Eingriffe.

Wird nun ein solcher Muskelpreßsaft unmittelbar (etwa 1 Stunde) nach dem Tode des Tieres zur Messung des kolloidosmotischen Druckes gegen $m/10$ Phosphat vom p_H 6,3 angesetzt, so stellt sich innerhalb 24 Stunden ein osmotischer Druck ein, der tagelang konstant bleibt. Werden am Schluß des Versuchs die unlöslichen Bestandteile des Preßsaftes abzentrifugiert (3 bis 4% des Gesamteiweißes), so kann der osmotische Druck mit der Konzentration des Preßsaftes an löslichem Eiweiß verglichen werden; er ist dann nur wenig (etwa 5%, vgl. Kap. IV, Abb. 3) kleiner als der osmotische Druck einer gleich konzentrierten, hoch gereinigten, 2 Monate alten Myogenlösung. Daß er überhaupt kleiner ist, kann zwanglos darauf bezogen werden, daß eine leichte Trübung unlöslicher oder niedrigdisperser Beimengungen (Globulin unbekannter Herkunft, s. oben, Myogenfibrin) nicht restlos abzentrifugiert werden kann. Das Teilchengewicht des Myogens ist also offenbar in gereinigter Lösung, im Preßsaft und also auch im Sarkoplasma (s. S. 274 f.) sicher fast gleich, wahrscheinlich vollständig gleich.

Damit ist die Möglichkeit von solchen *Sørensen*-Reaktionen, die das Teilchengewicht *nicht* beeinflussen, nicht ausgeschlossen: Während der Myogenreinigung und -aufbewahrung finden Änderungen im Eiweißbestand der Lösungen statt. Nach dem plötzlichen Salzzug während der ersten drei Dialysetage sind etwa 15% des ursprünglichen Eiweißes abzentrifugierbar, in denen die Hauptmasse des unbekanntes Globulins neben *Fürth*'schem Myogenfibrin enthalten ist. Bei der Aufbewahrung in salzfreier Lösung fallen dann noch weiterhin Myogenfibrinmengen von 0,003 bis 0,005 g pro Tag und Gramm Myogen aus. Außerdem bilden sich im Dialysat dauernd sehr geringe Rest-N-Mengen aus dem Eiweiß neu: 0,2 bis 0,26 mg N täglich aus 1 g Myogen. Ungefähr dieselbe Rest-N-Neubildung findet sich auch im frischen Preßsaft; doch ist diese Angabe weniger genau wegen des hohen Anfangsgehaltes an Rest-N. Bei hoher Salzkonzentration scheint die Rest-N-Bildung beschleunigt zu sein: 0,5 bis 0,8 mg N täglich aus 1 g Myogen. Die angegebenen Änderungen während des Aufbewahrens sind nicht an dem kleinen Unterschied des mittleren Teilchengewichtes von Preßsaft und Myogen schuld. Denn 16 und 54 Tage alte Myogenlösungen geben genau den gleichen osmotischen Druck, obwohl vom 16. bis zum 54. Tage sich 5,4% des Eiweiß-N in Rest-N verwandeln. Vielleicht entsteht der Rest-N aus dem zu Myogenfibrin denaturierenden Myogenanteil.

IV. Teilchengewicht und Wirkungsvolumen des Myogens.

Der osmotische Druck von isoelektrischen Myogenlösungen und von frischem Preßsaft bei 4° C ist in Abb. 3 verzeichnet. Bei der Myogen-

konzentration von 7%, die im Sarkoplasma vorhanden sein dürfte (vgl. Kap. III, S. 275), würde der kolloidosmotische Druck etwa 17,5 mm Hg, bei Körpertemperatur also etwa 20 mm Hg betragen. Da die fibrillären Strukturteile des Muskels unlöslich sind, dürfte diese Größe auch als kolloidosmotischer Druck des Gesamtmuskels anzusprechen sein.

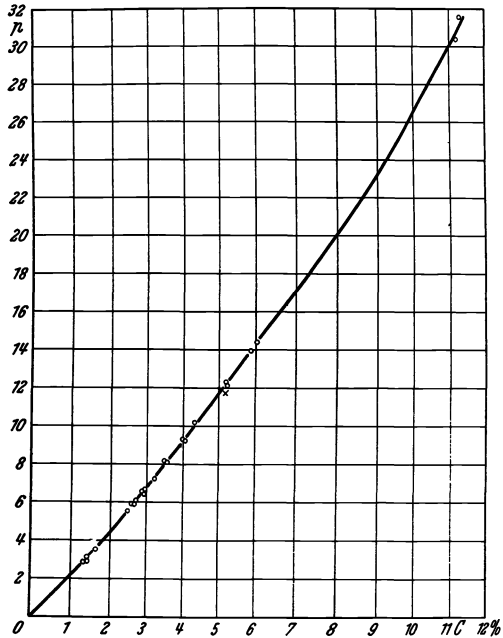
Abb. 3.
 Osmotischer Druck des Myogens
 bei 277° absolut.
 Ordinate: Millimeter Hg.
 Abszisse: Gramm Myogen in
 100 ccm = 0,1 Liter.
 ••••• Gemessene Drucke bei
 reinem Myogen.
 × Bei frischem Muskelpreß-
 saft.
 — = p berechnet

$$= \frac{g}{M} \cdot R \cdot T$$

$$= \frac{g}{V - g \cdot s}$$

$$= \frac{g}{81\,000} \cdot 17\,282,4$$

$$= \frac{0,1 - \frac{g \cdot 1,98}{1000}}$$



Der osmotische Druck solcher Myogenlösungen ist keine „ideale“, d. h. geradlinige Funktion der Myogenkonzentration. Abb. 3 zeigt, daß er dagegen genau der *van der Waals*schen Zustandsgleichung:

$$p = \frac{g}{M} \cdot R T$$

$$p = \frac{g}{V - g \cdot s}$$

folgt, wenn für M 81000*, für s 1,98 ccm eingesetzt wird.

$$\left(1,98 \text{ ccm} = \frac{1,98}{1000} \text{ lt.} \right)$$

* Erkennt man die *T. Svedbergsche* Regel an, daß monodisperse Eiweißlösungen ein Teilchengewicht von einem Vielfachen von 34 500 haben müssen, so würde dieses Teilchengewicht für Polydispersität sprechen. Versuche, eine unmittelbare Entscheidung mit Hilfe von Fraktionierung des Myogens durch Membranen abgestufter Porenweite herbeizuführen, leiten nicht zu einem sicheren Urteil. Dagegen könnte diese Frage mit der Ultrazentrifuge geklärt werden.

Die Ermittlung dieser beiden Größen wird aus Abb. 4 ersichtlich, in der das Verhältnis C/p in Abhängigkeit von der Myogenkonzentration gebracht ist. Der gefundene Wert C/p bei der Konzentration 0 beträgt 0,469. Hieraus ergibt sich nach Formel (1) (s. Kap. 1) das mittlere

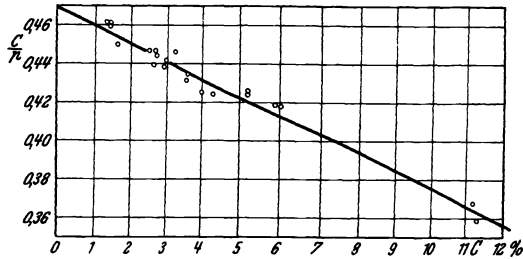


Abb. 4. C/p als Funktion von C .

Ordinate: C/p . Abszisse: C = Gramm Eiweiß in 100 ccm. p in Millimeter Hg. $\circ \circ \circ$ = Versuchspunkte.

Teilchengewicht: $10 \cdot RT \cdot 0,469 = 81000^*$ (für $t = 4^\circ \text{C}$). C/p wird Null in streng geradliniger Abhängigkeit von der Myogenkonzentration bei einer Myogenkonzentration von 50,5% (in der Abbildung zwecks Raumersparnis fortgelassen). Dann aber ist (Kap. I, S. 271)

$$s = \frac{100}{50,5} = 1,98 \text{ ccm}^1.$$

Daß die Geradlinigkeit der C/p -Kurve real und nicht durch Versuchungenauigkeit vorgetäuscht ist, folgt aus Abb. 5. Die reziproke

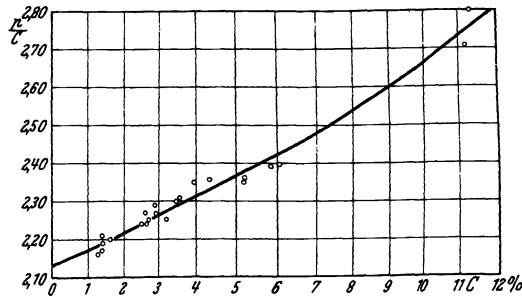


Abb. 5. p/C als Funktion von C .

Sonst wie Abb. 4. $\circ \circ \circ$ = Versuchspunkte. — = berechnet aus Kurve Abb. 4: $\frac{p}{C} = \frac{C}{p} \cdot \frac{1}{C}$.

* Der Faktor 10 ist abweichend von Gleichung (1) hier eingeführt, weil die Molarität einer Lösung nicht durch die in 100 ccm, sondern durch die in 1 Liter gelöste Grammzahl bestimmt ist.

¹ Die Zahl 100 tritt im Zähler auf, weil die Myogenkonzentration in Prozenten angegeben ist.

Funktion p/C , die bei anderen Eiweißkörpern bisweilen geradlinig verläuft¹, zeigt durchaus die bei tatsächlicher Geradlinigkeit von C/p zu erwartende Krümmung. Das aber heißt (Kap. I), daß das spezifische Kovolumen des Myogens für alle Myogenkonzentrationen mit hoher Wahrscheinlichkeit dasselbe ist.

Diese Tatsache verdient Berücksichtigung bei der Entwicklung der aussichtsreichen Überlegungen über den Zusammenhang zwischen Solvation und osmotischem Druck, die *G. V. Schulz* u. a. gerade an die Inkonstanz des spezifischen Kovolumens, die sich bei Kolloiden nicht selten findet, geknüpft hat.

Fragt man nach der physikalischen Bedeutung des spezifischen Kovolumens s , so liegt es verhältnismäßig nahe, es als das Volumen zu deuten, das das gelöste Eiweiß mit seinem Wassermantel, kurz das Eiweißhydrat, beansprucht. Dieser Schritt ist wiederholt getan: Durch *Burk*² und vor allem *G. V. Schulz* in seinen systematischen und sehr anregenden Arbeiten³, in denen er diese Deutung durch die von ihm gefundene Übereinstimmung des spezifischen Kovolumens mit dem Quellungsvolumen derselben Substanz im Gelzustand und ihren geeignet berechneten Viskositätswolumen im gelösten Zustande begründet. Diese Deutung schien aber bisher mit einer gewissen Schwierigkeit behaftet deshalb, weil das *van der Waals*sche spezifische Kovolumen viermal so groß sein sollte wie das wirkliche Eigenvolumen der gelösten oder gasförmigen Teilchen. Wird nämlich als wirkliches Eigenvolumen der hydratisierten Kolloidteilchen das Volumen des gequollenen Kolloids (*Schulz*⁴) oder aber der Hydratationsraum, das maximale Volumen des nichtlösenden Raumes für Kolloide angesehen (*Adair*⁵), so ergibt sich durch die Multiplikation mit vier ein Volumen, das viel größer ist als das spezifische Kovolumen. Eine derartige Multiplikation wäre aber unrichtig, weil weder der Hydratationsraum noch das Quellungsvolumen das wahre Volumen der Eiweißhydratpartikel sein dürften. Für den Hydratationsraum läßt sich das selbst unter der Annahme starrer Eiweißhydratkugeln beweisen. Man kann den Anteil des Hydratationsraumes (HR.) am Gesamtvolumen der Lösung (V) theoretisch immer aus der Differenz des osmotischen Druckes eines

¹ *N. F. Burk*, J. of. biol. Chem. **98**, 353, 1932; *G. S. Adair*, Proc. Roy. Soc. **120**, 573, 1928.

² *Derselbe*, J. of. biol. Chem. **98**, 353, 1932.

³ *G. V. Schulz*, Zeitschr. f. physik. Chem. **158**, 237, 1932, und zwar S. 252.

⁴ *Derselbe*, ebenda **158**, 237, 1932, und zwar S. 252.

⁵ *G. S. Adair* u. *M. E. Robinson*, Biochem. J. **24**, 1864, 1930, und zwar S. 1876.

Kristalloids bei Eiweißgegenwart (p_{el}) und bei Eiweißabwesenheit (p_l) bestimmen (z. B. *Weber-Versmold*¹ durch Gefrierpunktsbestimmung)

$$\frac{\text{HR.}}{V} = \frac{p_{el} - p_l}{p_{el}}$$

Es wird nun sinngemäß für p_{el} der *van der Waalssche* und für p der „ideale“ Wert des osmotischen Druckes eingesetzt und das wirksame Volumen des Kolloids auf den kristalloidosmotischen Druck mit b' bezeichnet:

$$\frac{\text{HR.}}{V} = \frac{\frac{nRT}{V - b'} - \frac{nRT}{V}}{\frac{nRT}{V - b'}} = \frac{b'}{V}$$

Der Hydratationsraum (HR. = b') ist also bereits ein Wirkungsvolumen. Dieses Wirkungsvolumen b' der Eiweißteilchen auf den Partialdruck zugemischten Kristalloids sollte aber kleiner sein als das Wirkungsvolumen b , das für den kolloidosmotischen Druck selbst maßgebend ist. Denn bei gegebenem Eigenvolumen ist das Wirkungsvolumen dann ein Maximum (und zwar gleich dem vierfachen Eigenvolumen), wenn alle osmotisch wirksamen Teilchen gleich groß sind. Bei der Bestimmung des Hydratationsraumes aber wird das Wirkungsvolumen des Kolloids auf den osmotischen Druck von Kristalloiden bestimmt; es wird also in einem Gemisch sehr verschiedener Teilchengrößen gemessen. In Übereinstimmung mit den experimentellen Befunden ist also der Hydratationsraum kleiner, aber nicht viermal kleiner als das *van der Waalssche* Kovolumen zu erwarten.

Daß b' kleiner sein muß als b , läßt sich durch eine einfache geometrische Überlegung zeigen, die hier nicht angeführt werden soll. Ihr Ergebnis läuft darauf hinaus, daß dann, wenn Kristalloidmoleküle der Kolloidlösung zugemischt werden, die Wegverkürzung für die Kristalloidteilchen bei einem Zusammenstoß mit den Kolloidteilchen dieselbe ist wie für ein Kolloidteilchen, die Chance eines solchen Zusammenstoßes (die reziproke Größe der freien Weglänge) aber kleiner.

Ob die Annahme starrer Eiweißhydratkugeln überhaupt richtig ist, soll hier nicht erörtert werden. Es sollte nur gezeigt werden, daß selbst dann keinerlei theoretische Schwierigkeiten beim Vergleich der Hydratationsvolumina als Hydratationsraum und als *van der Waalssches* Kovolumen bestehen.

Auch das Quellungsvolumen ist nicht das wahre Eigenvolumen, sondern vielmehr das Packungsvolumen der Eiweißhydratteilchen. Über den Anteil des wahren Eigenvolumens der Teilchen am Gesamt-

¹ *H. H. Weber u. H. Versmold*, diese Zeitschr. 234, 62, 1931.

volumen des Molekülpaketes gibt der *Lorenz-Lorentz-Ausdruck* $\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2}$ Aufschluß. Der Brechungsindex n ist für lufttrockene Gele mit etwa 10 % Wassergehalt 1,5 bis 1,53 (Myogen, Serumalbumin, Gelatine, Myosin)¹. Der *Lorenz-Lorentz-Ausdruck* ist also 0,3, oder das Packungsvolumen ist ähnlich wie das Wirkungsvolumen drei- bis viermal so groß wie das Eigenvolumen. Bei weiterer Quellung dürfte sich das nicht viel ändern, da anderenfalls eine sehr starke Volumenkontraktion zu erwarten wäre. Außerdem ist die spezifische Brechung in verdünnten Lösungen (< 10 %) ebenso groß wie in konzentrierten Gelen. Extrapoliert man *Adairs* und *Robinsons*² Messungen auf 100 % Eiweiß, so ist n für Serumalbumin und Serumglobulin ebenfalls 1,52 und 1,51. Das heißt aber: bei gleichem Hydratationsgrad sollten Quellungs-(Packungs-)Volumen und Wirkungs- (*van der Waals*-)Volumen annähernd gleich groß sein, wie es auch die Beobachtungen ergeben haben³. Dies gilt dann natürlich auch für fehlende Hydratation. Da das spezifische Volumen eines Grammes trockenen Eiweißes (1/Dichte) 0,745 ccm beträgt, ist also 0,745 ccm auch das Wirkungsvolumen eines Grammes unhydratisierten Eiweißes in Lösung. Die entsprechenden Überlegungen früherer Untersucher⁴, Eiweißkörper seien dann hydratisiert, wenn ihre Wirkungs- (b oder b') oder Quellungsvolumina größer seien als das spezifische Volumen, behalten also ihre Gültigkeit.

Die Erörterungen lassen sich so zusammenfassen: Hydratationsraum, *van der Waals*sches Wirkungsvolumen und Quellungsvolumen sind theoretisch in mindestens annähernd „richtiger“ Weise vom wahren Eigenvolumen unhydratisierter und hydratisierter Eiweißteilchen abhängig; sie sind also gleich brauchbare relative Maßstäbe der Hydratation. Den quantitativ sehr ähnlichen Größen, *van der Waals* Volumen und Quellungsvolumen, scheint aber darüber hinaus Bedeutung als „absoluter“ Maßstab zuzukommen, indem sie wenigstens in unkomplizierten Fällen⁵ gleichzeitig das Viskositätsvolumen darstellen (*Schulz*⁶).

Wenn das richtig ist, würde sich aber die Möglichkeit bieten, aus einem dieser Volumina und der Viskosität die Teilchengestalt

¹ Bestimmung am eingetrockneten Tropfen mit der Einbettungsmethode.

² *G. S. Adair* u. *M. E. Robinson*, *Biochem. J.* **24**, 993, 1930.

³ *G. V. Schulz*, a. a. O.

⁴ *S. P. L. Sørensen*, *Kolloidzeitschr.* **53**, 102, 1930; *Polanyi*, diese *Zeitschr.* **104**, 237, 1920; *H. H. Weber* u. *Nachmannsohn*, ebenda **204**, 215, 1929; *H. H. Weber* u. *Versmold*, ebenda **234**, 62, 1931.

⁵ Bei elektrischer Aufladung ist das Verhalten sehr kompliziert. *Ettig* u. *G. Schulz*, diese *Zeitschr.* **239**, 48, 1931.

⁶ *G. Schulz*, *Zeitschr. f. physik. Chem.* **161**, 441, 1932.

zu berechnen, die in die Viskosität als einzige weitere Variable eingeht. Die Unterlage dieser *Schulzeschen* Überlegung wird erweitert durch die Feststellung, daß auch bei Myogen Viskositätsvolumen und *van der Waals*-Volumen gleich sind, wenn man das Myogenteilchen als Kugel betrachtet (spezifisches Viskositätsvolumen $S = 1,90$ ccm, spezifisches *van der Waals*-Volumen $s = 1,98$ ccm). Daß Myogenteilchen Kugeln sind, geht aber auch aus ihrer außerordentlich hohen Löslichkeit, ihrer sehr niedrigen und normalen Viskosität und dem Fehlen jeder Art von Doppelbrechung hervor. Man kann auch umgekehrt sagen, durch die Übereinstimmung von Viskositäts- und *van der Waals*-Volumen wird die Kugelgestalt des Myogens bestätigt.

Über die Größe der Hydratation verschiedener Eiweißkörper, gemessen als spezifisches *van der Waals*sches Wirkungsvolumen, gibt Tabelle II Auskunft. Sie zeigt, daß Eiweißkörper im allgemeinen, Myogen im besonderen verhältnismäßig wenig hydratisiert sind.

Tabelle II.

Autor	Eiweiß	In Lösung	Molekulargewicht	Spez. <i>van der Waals</i> sches Wirkungsvolumen ccm
<i>Burk</i> * . . .	Serumalbumin	Wasser, Acetatpuffer	74 600	0,745
<i>Weber-Stöver</i>	Myogen	0,01 molar Phosphat	81 000	1,98
<i>Adair</i> ** . . .	Hämoglobin	Phosphat	70 000	2,6
"*** . . .	Serumglobulin	0,2 molar Phosphat	175 000	2,82
<i>Burk</i> * . . .	Serumalbumin	0,74 molar $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	76 600	3,92

* *N. F. Burk*, J. Biol. chem. **98**, 353, 1932.

** *G. S. Adair*, Proc. Roy. Soc. **120**, 573, 1928.

*** *G. S. Adair*, Biochem. J. **24**, 1864, 1930.

Myogen ist also ein mäßig hydratisierter Eiweißkörper mit kugelförmigen Teilchen vom (Molekular-)Gewicht 81000* und einem Wirkungsvolumen von 1,98 ccm/g.

Von konzentrierten Harnstofflösungen ist bekannt, daß sie die Teilchengewichte mancher Eiweißkörper stark verkleinern¹. Verhältnismäßig häufig werden Teilchengewichte größer als 34500 gerade auf diesen Wert herabgesetzt. Auch bei Myogenlösungen ist das so: Der

* *De Caro* gibt für Myoprotein aus Muskelpreßsaft — einen Eiweißkörper, der allgemein wie von ihm selbst für identisch mit Myogen gehalten wird — ein Teilchengewicht von 290000 (*Amer. J. of Physiol.* **90**, 325, 1929) bis 320000 (*Arch. di Sci. biol.* **14**, 247, 1930) an. Teilchengewichte und seine Angabe, sein Eiweißkörper sei in H_2O unlöslich, sprechen gegen die Übereinstimmung mit genuinem Myogen.

¹ *Burk* u. *Greenberg*, J. Biol. Chem. **137**, 197, 1930; *Huang* u. *Wu*, *Chin. J. Physiol.* **4**, 221, 1930.

osmotische Druck einer 2%igen Lösung steigt bei Gegenwart von 36 bis 45% Harnstoff so, daß sich nach der idealen Formel (1) ein Teilchengewicht von 33000 berechnet. Wird dieses auf die *van der Waalssche* Zustandsgleichung korrigiert unter der Annahme, daß die Größe von *b* durch den Harnstoff nicht geändert wird, so würde sich das Molekulargewicht 34000 ergeben.

In konzentrierten Rhodanidlösungen sinkt dagegen der osmotische Druck, und zwar so, daß sich in 2%igen Myogenlösungen unter Vernachlässigung der *van der Waalsschen* *b*-Konstanten in 1,4 mol. NH_4SCN das Molekulargewicht zu 337000, in 3 mol. ein solches zu 354000 berechnet. Das ist merkwürdig, weil Rhodanid ebenso wie Harnstoff die Löslichkeit der Eiweißkörper außerordentlich erhöht.

V. Anhang. Die Größenordnung des Teilchengewichtes vom Myosin.

Für die Analyse der Hyperfeinstruktur des Muskels ist das Teilchengewicht, mit dem das Myosin aus seiner fibrillären Struktur in konzentrierte Salzlösungen geht, vielleicht noch wichtiger als das Teilchengewicht des Myogens. Leider ist es nicht genau zu bestimmen, da unverändertes Myosin nach *Edsal*¹ selbst unter optimalen Bedingungen nicht viel höher als gut 1% löslich ist. Da gleichzeitig das Teilchengewicht außerordentlich hoch ist, beträgt der osmotische Druck nur wenige Millimeter Öl. Die Wichtigkeit des Micellgewichtes rechtfertigt aber auch eine nur größenordnungsmäßige Angabe. Eine 1,02%ige Myosinlösung ergab nach der klassischen Gleichung ein Teilchengewicht von 1270000, eine auf 1,44% eingeenzte Myosinlösung ein solches von 526000. Der richtige Wert mag dem höheren Ergebnis näher liegen, da beim Einengen ein gewisser Molekülabbau nicht unwahrscheinlich ist.

Durch eine 45%ige Harnstofflösung wird der osmotische Druck verhältnismäßig viel stärker erhöht als beim Myogen; das in der oben angegebenen Weise errechnete Molekulargewicht verminderte sich auf etwa 100000.

VI. Zusammenfassung.

1. Für die Erforschung des molekularen Feinbaues des Muskels ist die Kenntnis des Teilchengewichtes der Muskeleiweißkörper, des Volumens und der Gestalt des Teilchenhydrates Voraussetzung.

2. Aus osmotischen Messungen können Teilchengewicht und Hydratvolumen für dialysiertes Myogen sehr genau angegeben werden. Das mittlere Teilchengewicht beträgt 81000, das Hydratvolumen eines Grammes 1,98 cm. Beim Myosin in *Edsalscher* Lösung ist nur die größenordnungsmäßige Angabe des Teilchengewichtes möglich. Es liegt zwischen $0,6$ und $1,2 \cdot 10^6$.

3. Das Hydratvolumen des Myogens ist hier als spezifisches *van der Waalssches* Wirkungsvolumen des osmotischen Druckes gemessen; Betrachtungen über den theoretischen Zusammenhang zwischen

¹ *G. T. Edsal, J. of biol. Chem. 89, 289, 1930.*

Hydratationsraum (maximaler nichtlösender Raum), Quellvolumen und *van der Waals*-Volumen lassen dies bei Berücksichtigung des Brechungsexponenten des Myogens und anderer Eiweißkörper berechtigt scheinen.

4. Dieses Volumen von 1,98 ccm stimmt mit dem Viskositätsvolumen des Myogens von 1,9 überein, wenn das Viskositätsvolumen nach der *Einsteinschen* Kugelformel berechnet wird. Hieraus folgt in ausgezeichneter Übereinstimmung mit dem sonstigen Verhalten des Myogens, daß die Teilchengestalt des Myogenhydrates die einer Kugel ist.

5. Ebenso wie bei einer Reihe anderer Eiweißkörper wird *durch konzentrierte Harnstofflösungen* das Teilchengewicht des Myogens auf 34000 herabgesetzt. Beim Myosin erniedrigt sich durch Harnstoff das Teilchengewicht auf etwa 100000. Konzentrierte Ammoniumrhodanidlösung erhöht dagegen merkwürdigerweise das Teilchengewicht des Myogens auf über 300000, obwohl sie ein ausgezeichnetes Lösungsmittel für Eiweißkörper ist.

6. Muskelpreßsaft enthält als Eiweißkörper fast ausschließlich Myogen. Das Myogen des Muskelpreßsaftes und der gereinigten Lösung ist vollständig oder weitgehend gleich. Die Zusammensetzung des Muskelpreßsaftes scheint weitgehend dieselbe zu sein wie die des flüssigen Muskelinhaltes, des Sarkoplasmas. Muskelpreßsaft enthält etwa 7% Eiweiß, der osmotische Druck einer 7%igen Myogenlösung von etwa 20 mm Hg bei 37° C oder ein Wert, der ein wenig höher liegt (Ödembildung bei der Muskeldurchspülung, isoelektrischer p_H statt physiologischer p_H) dürfte also auch der kolloidosmotische Druck des lebenden Säugetiermuskels sein.

Lebenslauf.

Am 12. August 1908 wurde ich, Richard Stöver, als Sohn des Stuckateurmeisters Johann Stöver und seiner Ehefrau Helene geb. Heyne in Münster (Westf.) geboren. Von Ostern 1914 bis Ostern 1918 besuchte ich die Volksschule, von Ostern 1918 bis Ostern 1927 die Oberrealschule in Münster. Von März bis Oktober 1927 war ich am Stadtvermessungsamt Münster als Landmessereleve tätig. Ich gab meinen Vorsatz, Landmesser zu werden, jedoch auf. Im Wintersemester 1927/28 begann ich mit dem Studium der Medizin in Münster und bestand hier im Frühjahr 1930 die ärztliche Vorprüfung. Meine klinischen Semester verbrachte ich in Berlin und Münster. Im Sommersemester 1933 bestand ich mein Staatsexamen in Münster.

Richard Stöver.