

CHEMISCH WEEKBLAD

ORGAAN VAN DE NEDERLANDSE CHEMISCHE VERENIGING

INHOUD

	Bladz.		Bladz.
Verhandelingen, Overzichten, Verslagen		Prof. Dr. E. C. Wassink, Photosynthese als biokatalytisch proces.	968
Prof. Dr. Ir. A. J. Kluyver, Inleiding tot de biokatalyse en zijn problemen.	925	Dr. H. Veldstra, Remstoffen en remming van enzym-systemen.	978
Prof. Dr. L. J. Oosterhoff, Toepassing van de algemene theorie van de reactiesnelheid in de biokatalyse.	934	Prof. Dr. K. C. Winkler, Regulatie en samenspel der bio-chemische reacties in de cel.	994
Prof. Dr. H. G. K. Westenbrink, Algemene beschouwin-gen over de bouw en de werking der enzymen.	939	Boekbesprekingen	1002
Drs. W. Brackman, De functie van het metaalion in enkele enzymen.	948	Personalia	1003
Prof. Dr. E. Havinga, Betekenis van de eiwitten bij de biokatalyse en energieoverdracht.	954	Verenigingsnieuws	1003
Drs. W. Berends, Het nuttige gebruik van de chemische energie door de levende cel.	961	Mededelingen van het Secretariaat. — Secties. — Chemi-sche Kringen.	
		Aangeboden betrekkingen	1004
		Agenda van vergaderingen	1004

*Symposium over Biokatalyse**Utrecht, 1 en 2 Februari***Inleiding tot de biokatalyse en zijn problemen**

door A. J. Kluyver

542.98 : 577.15.02

I. Wat omvat het begrip biokatalyse?

Bij de aanvang van een symposium over biokatalyse lijkt het passend allereerst even stil te staan bij de vraag, wat de term „biokatalyse” eigenlijk omvat. Men zou deze vraag wellicht het beste aldus kunnen beantwoorden, dat biokatalyse een verzamelbegrip is voor alle chemische processen, welke zich onder de invloed van in de levende cellen gevormde katalysatoren afspelen. Als zodanig vallen dus hieronder zowel dergelijke processen, zoals deze in de levende cel zelve verlopen, als ook die, waarbij de genoemde katalysatoren hetzij door de cel zelve in het omrin-gende medium zijn uitgescheiden, dan wel door de onderzoeker uit de cel of uit het medium zijn afge-zonderd.

Er wordt maar een oppervlakkige bekendheid met het gebied der physiologie vereist om tot het inzicht te komen, dat het verschijnsel der biokatalyse ten grondslag ligt aan alle verrichtingen van de levende cel, hetgeen het grote belang van een bestudering der biokatalyse afdoende doet uitkomen.

Anderzijds brengt dit gezichtspunt het onmisken-bare gevaar mede, dat een „symposium over biokata-lyse” zal ontaarden in een „symposium over bio-chemie”, waarmede uiteraard het karakter van het symposium geheel verloren zou gaan. Terecht hebben

daarom de sprekers er in het algemeen naar gestreefd zoveel mogelijk de beginselen naar voren te brengen en deze slechts door de behandeling van bepaalde voorbeelden te belichten.

Naarmate geleidelijk een vollediger overzicht is verkregen van de zo uiteenlopende levensvormen en hun verrichtingen is men in toenemende mate onder de indruk gekomen van de grote verscheidenheid der hieraan ten grondslag liggende chemische processen.

Wil men, zoals het symposium beoogt, dieper in het wezen van de biokatalyse doordringen, dan lijkt het daarom wel onmisbaar eerst enig denkbeeld te verkrijgen van de aard der door de levende cel bewerkte katalytische reacties. Toch zal ik hierbij allerm minst naar volledigheid streven; slechts enkele markante voorbeelden mogen er toe bijdragen de gedachten te bepalen.

Het is dan aangewezen in de eerste plaats aandacht te schenken aan die biochemische processen, welke zich reeds bij een eerste onderzoek duidelijk aan ons manifesteren, namelijk die, waarbij kennelijk een bepaalde voedselcomponent in de levende cel door-dringt, om na chemische omzetting weer door de cel in het omringende medium te worden afgescheiden: de zgn. dissimilatorische processen. Duidelijk zien wij dit bijv. voor ogen, wanneer wij vaststellen, dat azijn-bacteriën glucose en zuurstof opnemen en wij daarna

een praktisch aequivalente hoeveelheid gluconzuur in het medium aantreffen.

Een geheel analoge situatie ontmoeten wij bij de in het bijzonder ook door zo talrijke hogere organismen bewerkte, veelal kortweg als ademhaling aangeduide, omzetting waarvan het bruto-resultaat wordt weergegeven door de vergelijking:



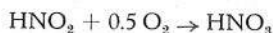
Hoewel het de chemicus niet moeilijk valt een dergelijke verbranding van glucose onder gebruikmaking van hoge temperaturen tot stand te brengen, treedt het bijzondere karakter van deze ademhalings-bio-katalyse toch dadelijk scherp naar voren, wanneer wij beseffen, dat zij zich afspeelt bij lage temperatuur in een verdunde oplossing.

De microbenwereld is nu in vergelijking met de wereld der hogere organismen gekenmerkt door de zeer grote variatie in dergelijke „over-all” reacties, welke zich onder de invloed van uiteenlopende microbensoorten afspelen. Enkele voorbeelden mogen dit toelichten.

Is het niet opmerkelijk te mogen vaststellen, dat er levende cellen — nitrinerende bacteriën — zijn, welke in een zwak alkalisch, water-milieu aanleiding geven tot de reactie:

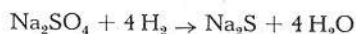


waarna dan andere, de zgn. nitraterende, bacteriën de reactie



verzorgen? In het bijzonder treffen deze biokatalysen, wanneer wij hierbij denken aan de wijze, waarop de chemische techniek zich van deze taak kwijt.

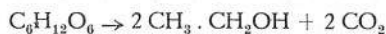
Verder stel ik mij voor, dat de door sulfaatreducerende bacteriën andermaal bij lage temperatuur in water-milieu bewerkte omzetting:



nog wel in sterkere mate de afgunst van onze technisch georiënteerde chemici zal opwekken.

Maar ook als wij terugkeren tot het uiteraard meer normale geval, waarin de substraten van het dissimilatorische proces van organische aard zijn, ontmoeten wij aanstonds chemismen, welke tot dusver door de organicus nog niet zijn gereproduceerd.

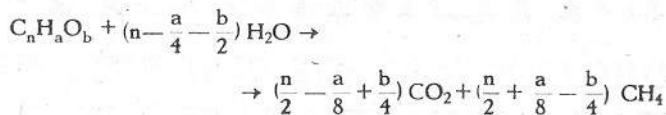
Dit geldt al dadelijk voor het zo bekende proces van de alcoholische gisting:



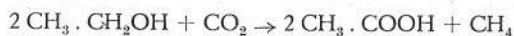
Van dergelijke gistingsprocessen heeft men een groot aantal typen leren kennen, die hier onvermeld blijven, maar die alle gekenmerkt zijn door het feit, dat hierbij uit het substraat bepaalde verbindingen worden gevormd, welke t.o.v. dit substraat zijn gereduceerd en andere, welke t.o.v. hiervan zijn geoxydeerd.

Nergens treedt dit gezichtspunt duidelijker naar voren dan bij de door *Bushwell* bestudeerde ruw-cultures van methaanbacteriën, welke de meest uiteenlopende organische verbindingen praktisch quantitatief omzetten in koolzuur en methaan. Dit geschiedt met zo'n verrassende negatie van de aard van

het substraat, dat het gerechtvaardigd was voor deze methaangisting de volgende algemene vergelijking op te stellen:



Nog indrukwekkender is misschien het door *Barker* ontdekte kunststukje, namelijk dat bepaalde methaanbacteriën onder hiertoe gunstige voorwaarden het volgende, op het eerste gezicht onwaarschijnlijk aandoende, chemisme bewerken:



Ik stel mij voor, dat iedere „pur sang” chemicus zal willen erkennen, dat hij voorlopig geenszins in staat is dergelijke reacties met een ook maar enigszins redelijk rendement te laten verlopen en zeker niet bij lage temperatuur in een water-medium.

Het voorafgaande moge voldoende zijn om reeds dadelijk een helder licht te werpen op het bijzondere karakter van de biokatalyse en tevens de overtuiging vestigen, dat ook de chemicus die zich verre houdt van de levende materie, nochtans in beginsel wat zal moeten kunnen leren van de wijze, waarop de levende cel „Chemie treibt”.

Het is U allen bekend, dat de biochemicus althans in sommige gevallen er geleidelijk in is geslaagd in de geheimen van dergelijke verrassende omzettingen door te dringen. In wellicht geen enkel geval is dit beter geschied dan bij de alcoholische vergisting van de hexosen. Hierbij is dan gebleken, dat de waargenomen bruto-omzetting is terug te voeren op een keten van primaire reacties, welke ieder voor zich onder de invloed van een specifieke, in de gistcel aanwezige katalysator verlopen.

Het desbetreffende schema, waarvoor ik naar de publicatie van *Berends* kan verwijzen, laat zien, dat in de omzetting van glucose in koolzuur en alcohol 12 meer of minder stabiele tussenproducten worden gepasseerd, terwijl uit verschillende gegevens moet worden besloten, dat alleen al het gistingsapparaat van de gistcel meer dan 20 specifieke katalysatoren omvat.

Gaat men na hetgeen men over het chemisme van het ademhalingsproces, m.a.w. de verbranding van glucose tot koolzuur en water, is te weten gekomen, dan valt te vermelden, dat naar alle waarschijnlijkheid, de inleidende omzettingen geheel dezelfde zijn als bij de alcoholische gisting. Het eenmaal gevormde pyrodruivenzuur wordt nu evenwel niet gedecarboxyleerd, maar ondergaat een condensatie met oxaalazijnzuur. Hierna volgt dan een cyclische reeks van omzettingen, waaruit oxaalazijnzuur wordt geregenereerd, terwijl uit de dehydrogenatiereacties drie koolzuurmoleculen resulteren. Voor deze door *Krebs* ontdekte tricarboxylzuur-cyclus — vroeger meest als citroenzuurcyclus aangeduid — verwijs ik andermaal naar de publicatie van *Berends*.

Het is hier niet de plaats nader op deze reactieschema's in te gaan. Slechts wil ik constateren, dat een beschouwing ervan leert, dat alle primaire reacties tot tweërlei typen zijn terug te brengen, te weten: de gekoppelde dehydrogenering en hydrogenering en voorts de overdracht van fosphaatgroepen van het ene molecuul op het tweede. Men kan deze beide

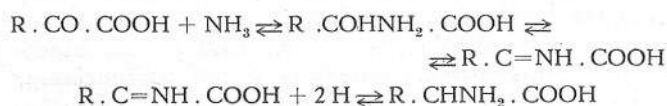
typen van processen respectievelijk kort als *transhydrogenering* en *transphosphorylering* aanduiden.

Het opmerkelijke gezichtspunt doet zich nu voor, dat alles wat men over de talrijke andere dissimilatorische processen te weten is gekomen pleit voor de opvatting, dat ook deze tot primaire reacties van één der beide genoemde typen zijn terug te brengen.

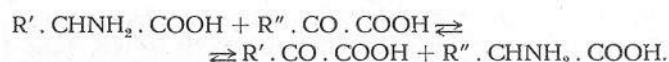
Intussen kent de biochemie naast de tot dusver beschouwde dissimilatorische processen ook die, welke tot de opbouw van nieuw celmateriaal d.w.z. tot de synthese der afzonderlijke celcomponenten, leiden. Deze assimilatorische processen zijn veel moeilijker voor de analyse toegankelijk en ons inzicht in het wezen daarvan is dan ook veel beperkter. Intussen staat het wel vast, dat ook hier onder de primaire reacties transhydrogeneringen en transphosphoryleringen veelvuldig zijn vertegenwoordigd.

Het is evenwel niet verwonderlijk, dat hier, gezien de in chemisch opzicht zo uiteenlopende verbindingen, waaruit de levende cel is gebleken te zijn opgebouwd, ook andere reactietypen zijn aangetroffen. Wij behoeven hierbij slechts te denken aan de in de cel nimmer ontbrekende eiwitten en het twintigtal aminozuren, waaruit deze zijn opgebouwd; hun synthese behoeft toch al dadelijk de incorporatie van de stikstof.

Het is nu wel bewezen, dat aminozuren kunnen ontstaan uit de inwerking van NH_3 (als ammonium-ion) op de corresponderende ketozuren, waarbij de primair gevormde iminozuren door hydrogenatie in aminozuren worden omgezet:



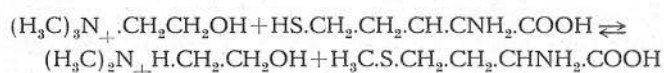
Aan Braunstein danken wij evenwel het bewijs, dat niet alle aminozuren steeds uit het corresponderende ketozuur en NH_3 behoeven te worden opgebouwd, doch dat bepaalde ketozuren ook met een ander aminozuur kunnen reageren, met dien verstande, dat hierbij de aminogroep naar het ketozuur verhuist, volgens de algemene vergelijking



Dit reactietype heeft de naam verkregen van *transaminering* en men kan onder dit begrip uiteraard ook de primaire aminozuurvorming uit ammoniak rangschikken.

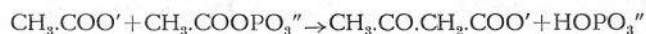
Als vierde reactietype is verder in de laatste jaren door du Vigneaud nog naar voren gebracht, het proces der *transmethylering*, d.w.z. de omzetting, waarbij een methylgroep van het ene molecuul naar een tweede wordt overgebracht.

Een bekend voorbeeld is de reactie, waarbij de CH_3 -groep van het choline wordt overgedragen op homocysteïne en waarbij dus naast het dimethylamino-ethanol het belangrijke aminozuur methionine ontstaat.



Tenslotte zij hier nog aangestipt, dat de belangrijke onderzoekingen van Lipmann en van Barker over de synthese van vetzuren het aannemelijk hebben

gemaakt, dat hierbij een overdracht van acetylgroepen van het ene molecuul naar een tweede in het spel is. Althans voor de volgende primaire reactietrap:



zijn sterke aanwijzingen verkregen.

Aan de eerder genoemde reactietypen moet dus nog het type der *transacetylering* worden toegevoegd.

Zo zien wij dus de op het eerste gezicht zo verbijsterend aandoende chemie van de biokatalyse althans grotendeels teruggebracht tot de processen der transhydrogenering, transphosphorylering, transaminering, transmethylering en transacetylering. Uiteindelijk moet de verklaring van de biokatalyse dus worden gevonden in de verklaring van de wijze, waarop de respectievelijke biokatalysatoren de overdracht van waterstof, fosfaat-, amino-, methyl- en acetylgroepen bewerken.

De voorafgaande uiteenzetting beoogt nu hiernaast het besef levendig te houden, dat de in de opeenvolgende symposium-voordrachten ter sprake komende biokatalytische processen slechts een gering onderdeel vormen van het zo uiterst omvangrijke en wonderbaarlijk gevarieerde gebied van de biokatalyse.

II. Aard en werkwijze der biokatalysatoren.

Indien men er naar streeft in het wezen der biokatalyse door te dringen, zal zich onmiddellijk de behoefte doen gevoelen een zo scherp mogelijk inzicht te verkrijgen in de chemische natuur der biokatalysatoren. Dit lijkt toch een onmisbare voorwaarde om te komen tot een begrip van de werkwijze van deze chemische toverkrachten. Zoals bekend is, is men er nu in talrijke gevallen in geslaagd deze, gewoonlijk als „enzymen” aangeduide, katalysatoren met behoud van hun werking uit de cel af te scheiden, en in bepaalde gevallen is het eveneens gelukt het werkzame principe te isoleren uit het zo uiterst complexe mengsel van celcomponenten, waarin dit principe dan primair pleegt te worden aangetroffen. Hoewel Westenbrink in zijn voordracht dit onderdeel van het biokatalyse-onderzoek nader belicht, wil ik toch ook hier nog even aanstippen, dat in alle gevallen, waarin men de zuivering van een enzyme voldoende ver heeft kunnen doorvoeren, men — zij het ook na tijdelijke afdwalingen — tot de conclusie is gekomen, dat men hier met een eiwit te doen had. Deze slotsom heeft aanmerkelijk aan zekerheid gewonnen, nadat Sumner in 1926 er als eerste in slaagde een enzyme, te weten: de urease, in kristallijne toestand af te scheiden. Sindsdien is dit voor een dertigtal andere enzymen eveneens mogelijk gebleken, waarbij in alle gevallen tot het eiwitkarakter der verkregen katalysatoren moest worden besloten.

Het is moeilijk het opmerkelijke karakter van deze uitkomst te overschatten, wanneer men zich hierbij het wonderbaarlijk katalytische vermogen van een dergelijk eiwit scherp voor ogen stelt. Ik wil slechts enkele voorbeelden noemen. Is het niet verrassend, dat men 4 gram saccharose in 6 seconden kan inverteren, door aan de saccharose-oplossing 50 mg van een ver gezuiverd eiwit-paerparaat, dat wij saccharase noemen, toe te voegen? Wellicht spreekt het nog meer, wanneer wij vermelden, dat een kleine hoeveelheid van een als lactase aangeduid eiwit-paerparaat bij 35°C in één uur evenveel lactose hydrolyseert als 2N zoutzuur in vijf weken.

Duidelijk tekent zich hier één van de grondproblemen van het biokatalyse-onderzoek af, namelijk de vraag in welk opzicht de eiwitstoffen met katalytische activiteit zich onderscheiden van vele andere eiwitstoffen, welke deze eigenschap missen. Wij moeten constateren, dat deze vraag heden ten dage nog allerminst op bevredigende wijze kan worden beantwoord, hoewel hierop in de voordrachten van *Westenbrink*, *Brackman* en *Havinga* wel enig licht wordt geworpen.

Zelf wil ik dienaangaande slechts enkele opmerkingen maken.

Wanneer wij weten, dat het molecuulgewicht van pepsine slechts ongeveer 33000 bedraagt en dat van urease in de omgeving van 483000 ligt, dan blijkt wel, dat de meer of mindere complexiteit van het eiwit in dit verband geen doorslaggevende factor is.

Begrijpelijkwijze is twijfel gerezen, of men bij de onderzochte biokatalysatoren inderdaad met zuivere eiwitstoffen te doen had en of niet mogelijk nog andere, aan de normale eiwitbouw vreemde, elementen daarin gemaskeerd zouden voortkomen. Men heeft evenwel kunnen vaststellen, dat het best gezuiverde kristallijne trypsine-prepareaat geheel asvrij was, zodat het vast staat, dat zuivere eiwitstoffen op zichzelf tot krachtige katalytische effecten, als hierboven vermeld, in staat zijn.

Dit neemt niet weg, dat in bepaalde gevallen de levende natuur niet heeft gearzeld de katalytische activiteit van het eiwit, hetzij te versterken dan wel de specificiteit van deze activiteit te verhogen door aan het eiwitmolecule bepaalde hulpstoffen te verbinden. Dit blijkt o.m. uit de vaststelling, dat sommige enzymen geregeld een zeker gehalte aan zware metalen bevatten, welke daaruit niet kunnen worden verwijderd zonder de katalytische activiteit te vernietigen. In de voordracht van *Westenbrink* worden hiervan talrijke voorbeelden genoemd, waaruit blijkt, dat zowel Fe, Cu, Zn als Mg als constitutieve elementen van enzymen zijn aangetroffen. Maar tevens wordt er door *Westenbrink* op gewezen, dat in andere gevallen het gezuiverde enzyme weliswaar geen metaal bevat, maar nochtans voor zijn katalytische werking de aanwezigheid van bepaalde metaalionen vereist. Aan de gegeven voorbeelden zou nog de onlangs door *Fromageot* en *Gorini* verrichte waarneming inzake de onmisbaarheid van Ca-ionen voor de werking van sommige bacteriënproteinasen kunnen worden toegevoegd.

In de voordracht van *Brackman* wordt een aantal biokatalysen, waarbij metalen zijn betrokken, aan een zorgvuldige analyse onderworpen, waaruit wel blijkt, dat uiteenlopende eigenschappen van de metaalionen voor hun werking verantwoordelijk zijn.

Het is evenwel nog een der onopgeloste problemen van de biokatalyse een samenhang te vinden tussen de aard der bewerkte biochemische omzettingen en de meer of mindere onmisbaarheid van metalen voor de werking der hierbij betrokken katalytische eiwitstoffen. Voorlopig treft het slechts, dat de enzymen, welke de hydrolyse van polymere koolhydraten bewerken, de zgn. carbohydrasen, blijkbaar geen medewerking van metalen behoeven en dat enzymen, waarin Fe of Cu zijn verankerd, typische transhydrogenasen zijn.

Het gegeven summier overzicht van de chemische aard der biokatalysatoren zou evenwel onvolledig zijn, indien niet nog even kort melding werd gemaakt

van die enzymen, voor de werking waarvan hulpstoffen van organische aard onmisbaar zijn. Reeds vroegtijdig heeft men voor enkele biokatalytische systemen kunnen vaststellen, dat zij zich hetzij door dialyse, hetzij door ultrafiltratie lieten scheiden in twee fracties, welke ieder voor zich onwerkzaam waren, doch waarvan de recombinate de oorspronkelijke biokatalytische activiteit deed terugkeren. Het bij de dialyse, resp. de ultrafiltratie, achterblijvende deel, het zgn. apo-enzyme, bleek thermolabiel en ook in alle andere opzichten de eigenschappen van een eiwit te bezitten. Het dialyseerbare en ultrafiltreerbare principe, het zgn. co-enzyme, was daarentegen thermostabiel en het kennelijk bescheiden molecuulgewicht van dit organische principe wekte de illusie, dat de vaststelling van de chemische constitutie hiervan tevens een inzicht zou geven in het wezen van de katalytische werking van het complexe systeem. De spanning steeg dan ook ten top, toen *Warburg* twintig jaren geleden er in een bewonderenswaardige onderzoekingsreeks in slaagde de constitutie van het co-enzyme der ademhaling, en kort daarna ook die van het co-enzyme der alcoholische gisting en de glycolyse, vast te stellen. Maar spoedig volgde op deze overwinning een sterke reactie, namelijk toen men leerde beseffen dat de door *Warburg* eveneens opgehelderde werkwijze van het co-enzyme in feite betekende, dat de rol van het co-enzyme moest worden gezien, als die van een nieuwe, ogenschijnlijk specifieke component in de reactieketen van ademhaling resp. gisting. Vooral sinds *Dixon* en *Zerfas*, zoals door *Westenbrink* nader wordt toegelicht, aantoonde, zodat de specificiteit van het co-enzyme geenszins absoluut is en zijn vervanging door andere waterstofacceptoren mogelijk is, is het geheimzinnige van de desbetreffende biokatalysen weer geconcentreerd in het apo-enzyme, d.w.z. op de eiwit-component van het enzyme-complex.

Waarheen wij dus in de biokatalyse het oog ook richten, steeds komt men tot de conclusie, dat de katalytische werking primair beheerst wordt door de constitutie van het hierbij werkzame eiwit. Het zal dan ook duidelijk zijn, dat voor het verkrijgen van een juist inzicht in het wezen der biokatalyse een verdieping van onze kennis van de chemie der eiwitten een eerste voorwaarde is. *Havinga* heeft in zijn voordracht voortreffelijk uiteengezet, hoe ver men in dit opzicht is gevorderd. Het is hierbij wel duidelijk geworden, dat de structuur van het eiwit zich bij uitstek leent tot de vorming van adsorptie-verbindingen met zeer uiteenlopende organische substraten en dat deze adsorptie, welke doorgaans een „multiple point“-karakter zal dragen, in bepaalde gevallen de vorm van het geadsorbeerde molecuul op zodanige wijze zal beïnvloeden, dat hierdoor dit molecuul in een reactieve configuratie overgaat.

Ik ga hierop niet nader in, daar dit punt in de voordracht van *Havinga* in extenso aan de orde komt. Toch wil ik in het beschouwde verband nog één opmerking maken. Wij zagen reeds, dat het wellicht het meest op de voorgrond tredende type van biokatalyse de transhydrogenering is, d.w.z. de katalytische overdracht van waterstof van het ene molecuul naar een tweede. Nu is het algemeen bekend, dat dit type van katalyse ook in de moderne organische en technische chemie veelvuldige toepassing vindt, waarbij men dan van uiteenlopende metaalkatalysatoren

pleegt gebruik te maken. Het is voorts opmerkelijk dat het in bepaalde gevallen bij deze katalysen om geheel dezelfde reactie gaat als die, welke wij ook bij de biokatalyse ontmoeten. Zo zijn wij er reeds van oudsher mede vertrouwd, dat men waterstofperoxyde zowel met behulp van platina, als met gebruikmaking van het enzyme katalase in water en zuurstof kan ontleden. De dehydrogenering van alcohol tot acetaldehyde met zuurstof als waterstofacceptor verloopt evengoed met platinaspons als met de alcoholdehydrogenase der azijnbacteriën, en bij beide katalysatortypen kan hierbij de zuurstof ook door waterstofacceptoren als chinon of methyleen-blauw worden vervangen. Voorts kan worden gewezen op de vele gevallen, waarin organische verbindingen in dampvorm onder invloed van specifieke metaalkatalysatoren worden gehydrogeneerd, welke reacties zich niet zelden ook met behulp van biokatalysatoren laten bewerkstelligen. De conclusie moet dan wel luiden, dat de in deze laatste werkzame krachten grote overeenkomst moeten vertonen met die, welke in de katalytische eiwitssystemen aanwezig zijn.

Zo mogen wij dan ook de verwachting koesteren, dat een betere doorgronding van de metaalkatalyse door de physio-chemicus zeker ook tot ons inzicht in de biokatalyse zal bijdragen en reeds dadelijk bestaat er volop aanleiding om te speuren naar die eigenschappen, waarin de op het eerste gezicht zo uiteenlopende lichamen als eiwitten en speciale metaalpraeparaten overeenstemmen.

III. Specificiteit van de biokatalyse.

Het is gebruikelijk de grote specificiteit van de biokatalyse te accentueren en dit geschiedt ongetwijfeld terecht. De in dit opzicht verrichte waarnemingen met de uit de cel geïsoleerde biokatalysatoren spreken een duidelijke taal. Ik behoef hier slechts melding te maken van het door *Sumner* vastgestelde feit, dat de door hem in zuivere toestand afgescheiden urease, welke ureum met grote snelheid omzet, geen enkele derivaat van deze verbinding aangrijpt. Voorts schijnt de uit *Aspergillus niger* afgescheiden glucosido-saccharase uitsluitend saccharose te hydrolyseren.

Wij stuiten hier wederom op een van de wonderen der biokatalyse. In de chemie der levenloze natuur is een dergelijke uitzonderlijke substraat-specificiteit bij katalysatoren, voor zover bekend, nog niet gerealiseerd en de kansen, dat men hierin zal slagen, lijken evenmin groot. Maar voorts uit de grote specificiteit van de afzonderlijke biokatalysatoren zich ook hierin, dat bij hun werking geen nevenproducten worden gevormd, de opbrengst van de reactie is steeds 100 %, d.w.z. dat voor iedere hoeveelheid verdwenen substraat een aequivalente hoeveelheid van het omzettingsproduct wordt verkregen.

Door *Hopkins* is met nadruk op de grote betekenis van de extreme specificiteit der biokatalyse gewezen en hij komt daarbij o.m. tot de volgende uitspraak: „I will ask you to consider whether catalysis on highly specific lines is not among the most fundamental and significant phenomena in nature”. Hij wijst er dan op hoe juist de aanwezigheid van de zo specifieke katalysatoren in de levende cel bepaalt, welke van de daar binnendringende substraten omzettingen zullen ondergaan, en hoe de cel juist hierdoor zich in dynamisch evenwicht met zijn omgeving kan handhaven. Hij besluit dan met de woorden: „The

interrelated activity of highly specific catalysts represents a notable device of Nature which has supported during the course of evolution those dynamic manifestations which characterize living things”.

Toch zal men anderzijds goed doen wat betreft de specificiteit der biokatalysatoren geen te extreem standpunt in te nemen. De beide hierboven genoemde voorbeelden hebben betrekking op hydrolysen, welke in zoverre een eenvoudig geval representeren, dat hierbij eigenlijk alleen het substraat in aanmerking moet worden genomen. Immers de tweede reagerende verbinding, het water, draagt een indifferent karakter en is steeds in overmaat in het medium aanwezig.

Alvorens evenwel in dit opzicht meer gecompliceerde gevallen te beschouwen, wil ik er even op wijzen, dat reeds voor vele andere hydrolasen geldt, dat zij weliswaar nog altijd door een grote specificiteit zijn gekenmerkt, doch dat hun werking zich toch doorgaans tot een kleinere of grotere groep van structuurverwante verbindingen uitstrekt. Sinds *Pasteur* is men er van doordrongen, dat de specificiteit van de biokatalysatoren zich in het bijzonder ook uit in het feit, dat zij van verbindingen met asymmetrische bouw slechts één van de antipoden aantasten, respectievelijk synthetiseren. Toch is ook hier gebleken, dat deze regel volstrekt niet altijd in volle strengheid geldt; voor bepaalde esterasen is het wel zeker, dat zij beide antipoden van een vetzuurester, zij het dan ook met uiteenlopende snelheid splitsen.

Wanneer wij ons dan afvragen, hoe het met de specificiteit van uit de cel geïsoleerde dehydrogenasen staat, dan valt het op, dat hier veelal ook een strenge substraat-specificiteit wordt aangetroffen.

Maar anderzijds vermeldde ik reeds, dat bij deze apo-enzyme en co-enzyme opgebouwde katalysatorsystemen de specificiteit t.o.v. de waterstof-accepterende component toch minder groot is dan men aanvankelijk dacht: het co-enzyme laat zich door verschillende andere waterstofacceptoren vervangen.

Het is nu niet zeldzaam, dat in het vraagstuk van de specificiteit van de biokatalyse ook het gedrag van de intacte levende cel wordt betrokken. Dit is begrijpelijk, omdat de hierbij opgedane ervaringen sterk tot het besef van het bestaan ener specificiteit bij de biokatalyse hebben bijgedragen. Ik behoef in dit opzicht slechts te herinneren aan het klassieke door *Pasteur* ontdekte uiteenlopende gedrag van zijn *Penicillium*-soort t.o.v. de beide wijnsteenzuurantipoden.

Dit neemt niet weg, dat men grote voorzichtigheid in acht moet nemen bij de interpretatie van het verschijnsel, dat een levende cel t.o.v. verschillende in zijn milieu voorkomende substraten selectief tewerk gaat. Hier kan toch een verschil in permeabiliteit van de plasmawand voor de beschouwde substraten voor het waargenomen effect verantwoordelijk zijn. Zo heeft bijv. *Gale* vastgesteld, dat cellen van *Staphylococcus aureus* bij afwezigheid van een energieleverend proces wel lysine, maar geen glutaminezuur uit hun medium opnemen.

Van de verrassende uitingen van specificiteit, welke men ontmoet, wanneer men in dit opzicht intacte cellen observeert, wil ik er nog één noemen. *Den Dooren de Jong* vond, dat de bacteriesoort *Pseudomonas putida* van de reeks der alifatische dicarbonsuren alleen malonzuur, barnsteenzuur en glutaarzuur aantastte. Een tweede bacteriesoort, door

hem *Pseudomonas acidovorans* genoemd, tastte deze zelfde zuren aan, doch bovendien ook nog de vijf hogere termen van de reeks. De klassieke enzymchemicus zou hieruit ongetwijfeld besluiten, dat eerstgenoemde bacteriesoort nu eenmaal over drie specifieke dehydrogenasen beschikt en dat de tweede soort van de natuur nog vijf andere dehydrogenasen op zijn levenspad heeft mede gekregen.

Een dergelijke instelling werd evenwel bezwaarlijk, toen men het geval ontmoette van een bacteriesoort, welke met grote vloedigheid een stof als Br-propionzuur verwerkte. Het is toch niet aannemelijk, dat de bacterie in kwestie van nature over een specifieke Br-propionzuur-dehydrogenase beschikt.

Met zulke feiten voor ogen is het wel erg verheugend, dat in later jaren zo overtuigend is gebleken, dat de levende cel gekenmerkt is door een relatief groot adaptatievermogen aan de haar omringende substanties en dat zoals in de voordracht van *Winkler* nader is gedocumenteerd de aard van de in de groeiende cel gevormde enzymen in belangrijke mate mede door de aanwezige substraten wordt bepaald.

Zowel uit de proefnemingen van *Spiegelman* als uit die van *Virtanen* c.s. treedt nu duidelijk naar voren, dat in de cel een onderlinge concurrentie tussen de zich reproducerende enzymsystemen optreedt, een strijd waarvan de uitslag dus in een belangrijke mate door de aard en de hoeveelheid der aanwezige substraten wordt beïnvloed. Met andere woorden binnen de cel speelt zich binnen zekere grenzen een enzymophopingsstrijd af, welke min of meer op één lijn is te stellen met de ophopingsstrijd in een mengsel van kiemen in een bepaald voedingsmilieu, een procedure welke de microbioloog zo veelvuldig toepast als voorbereiding bij het aanleggen van reïncultures. In ieder geval moeten wij beseffen, dat gelijksoortige cellen al naar gelang van het medium, waarin zij zijn gevormd, over een uiteenlopend biokatalytisch arsenaal zullen beschikken en dat de specificiteit van de katalytische werking van de levende cel tengevolge van haar grote flexibiliteit in katalysatorproductie aanmerkelijk kleiner is dan men in vroeger jaren wel heeft gemeend.

IV. De biokatalyse en de levende cel.

Het voorafgaande moge voldoende zijn om te doen beseffen, hoezeer wij nog zijn verwijderd van een doorgronding van één enkel primair biokatalytisch proces, als bijv. de hydrolyse van rietsuiker door het enzyme saccharase. Wel zijn voor wat betreft ons inzicht in een aantal van dergelijke primaire processen vorderingen gemaakt, zoals bijv. blijkt bij de door *Brackman* behandelde ervaringen opgedaan bij de peptide-splitsingen, waar de aandacht zich uiteraard concentreert op de medewerking van de metalen en waar de spectroscopie een zekere penetratie in het reactiemechanisme heeft mogelijk gemaakt. Met dit al is de oplossing van dit grondprobleem nog allerminst bereikt.

Doch al ware dit anders, dan nog zouden wij verplicht zijn met grote eerbied gemengd met extreme verbazing de biokatalytische prestaties van de intacte levende cel te aanschouwen, zelfs indien wij ons daarbij in eerste instantie tot één enkel bruto-chemisme beperken. Dit zou al dadelijk in bijzonder sterke mate het geval zijn bij het proces der photochemische koolzuurassimilatie door de groene plant, dat wij als een

der peilers van het leven op aarde kennen. Het is om deze reden zo verheugend, dat *Wassink* in zijn voordracht kan rapporteren, hoe de recente ontwikkeling van onze kennis van de fotosynthese steeds duidelijker doet uitkomen, dat dit proces in wezen niet van de overige biokatalytische processen afwijkt en in tegendeel met verschillende andere, steeds beter geanalyseerde processen bepaalde onderdelen gemeen heeft. Het uitzonderlijke karakter van de fotosynthese zou slechts hierin zijn gelegen, dat één van de componenten uit de reactieketen een grote energierijkdom ontleent aan een als photon geabsorbeerde energiequant.

Maar ook afgezien van dit bijzondere geval bestaat er alle reden om ons te verwonderen over de vloedigheid, waarmede de intacte cel een bepaalde chemische omzetting tot stand brengt. Nemen wij andermaal maar weer het voorbeeld van de populatie van gistcellen, welke in een glucose-oplossing gesuspenderd zijnde, met grote, en lange tijd constante, snelheid glucose omzet in aethylalcohol en koolzuur. Ook al zouden wij beschikken over alle zuivere bij de 13 primaire reacties biokatalytisch werkzaam zijnde eiwitten, co-enzymen en verdere hulpstoffen, dan nog lijkt het niet aannemelijk, dat wij het bruto-proces der alcoholische gisting zouden kunnen reproduceren door al de genoemde componenten *in vitro* in een water-medium bijeen te brengen.

Het is duidelijk, dat zich hier nog een heel ander probleem van de biokatalyse aan ons opdringt, namelijk de vraag op welke wijze in de levende cel een harmonische opeenvolging van de primaire reacties in een dergelijk ketenproces is verzekerd. Het ligt nu voor de hand in dit verband, in de eerste plaats te denken aan een ruimtelijke ordening van de afzonderlijke biokatalysatoren in de cel, m.a.w. aan te nemen, dat een structurelement hier bepalend is. In het eerste gedeelte van de voordracht van *Winkler* worden talrijke argumenten ter documentatie van dit gezichtspunt aangevoerd. Zo kan er heden ten dage moeilijk twijfel aan bestaan, of er zijn plaatselijk in de cel geordende biokatalysatorketens aan te wijzen, die hierdoor zijn gekenmerkt, dat een substraat door één katalysator wordt gedehydrogeneerd onder gelijktijdige hydrogenatie van een tweede — veelal als co-enzyme aangeduid — molecuul, dat dan weer wordt gedehydrogeneerd onder invloed van de tweede katalysator onder gelijktijdige hydrogenatie van een tweede co-enzyme enz. De vraag is nu maar, of wij de opeenvolgende katalysatoren nog ruimtelijk gescheiden moeten zien en dus moeten besluiten, dat het molecuul van het reversibele gebonden eerste co-enzyme langs de weg der diffusie de tweede katalysator bereikt, om vervolgens na dehydrogenatie weer naar de eerste katalysator terug te keren. Erg waarschijnlijk is zulk een voorstelling zeker niet; een dergelijke ongerichte diffusie zou welhaast onvermijdelijk tot grote verliezen aan transporterende moleculen moeten leiden en althans ogenschijnlijk met de economie van de cel moeilijk zijn te rijmen. Wanneer wij hiertegenover bedenken, dat de overdracht van waterstofatomen in wezen is terug te brengen tot een overdracht van elektronen, dan wordt het wel heel verleidelijk eerder de voorstelling te ontwerpen, dat de opeenvolgende katalysatoren deel uitmaken van één groot eiwitcomplex en dan de mogelijkheid te opperen, dat in dit complex zich een elektronentransport

voltrekt op een der wijzen, zoals deze zowel in de voordracht van *Havinga*, als in die van *Wassink* zijn aangeduid. Indien een dergelijke wijze van waterstoftransport zeer algemeen voor transhydrogenaseketens zou blijken te bestaan, zou dit nog het bijkomstige voordeel hebben, dat het bijzondere karakter van het fotosynthese-proces nog verder zou worden teruggedrongen, daar dan in wezen ook het transport van de energie van het door licht aangeslagen molecuul langs eenzelfde pad zou verlopen.

Men verlieze bij deze beschouwing evenwel niet uit het oog, dat het gepostuleerde eiwitcomplex inderdaad uit eiwitmoleculen met een zekere individualiteit moet zijn opgebouwd. Onder omstandigheden slaagt men er nl. in de afzonderlijke doorgaans zeer specifieke werkzame dehydrogenasen af te scheiden.

Ik wil niet nalaten aan te stippen, dat er ook wel andere voorstellingen zijn te ontwerpen aangaande de wijze van samenwerking van opeenvolgende biokatalysatoren in een reactieketen. Zo breekt *Dixon* in zijn aantrekkelijk boekje „Multi-enzyme Systems” een lans voor het door hem geponeerde beginsel van „organisation by specificity”. *Dixon* denkt zich de verschillende biokatalysatoren onderling gemengd in oplossing aanwezig. Indien men nu dit multi-enzyme systeem maar begrensd denkt door een praktisch impermeabele wand, zal de extreme specificiteit wel voor de rest zorgen. Een door de eerste katalysator gevormd product zal net zo lang in het systeem diffunderen tot het de daarop passende tweede katalysator beladen met zijn co-enzyme ontmoet en voor het na de intrede der reactie nieuw gevormde omzettingproduct geldt dan weer hetzelfde enz. enz. Persoonlijk komt het mij voor, dat de voorstelling van de door celstructuur verankerde biokatalysatorsystemen een grotere innerlijke waarschijnlijkheid heeft en dat de door *Westenbrink* besproken ontdekking van de cyclophorase door *Green* in dit opzicht een sterk argument oplevert.

Tot dusver heb ik nu nog uitsluitend gesproken over een reactieketen; de werkelijkheid is evenwel nog veel indrukwekkender, in zoverre dat het vaststaat, dat bepaalde intermediaire producten, welke in een reactieketen optreden, evenzeer deel uitmaken van een of meer andere reactieketens. Met andere woorden in de plaats van een groot aantal afzonderlijke reactieketens treedt wat men pleegt aan te duiden als een reactie-netwerk. Een voorbeeld hiervan levert bijv. het bij de alcoholische gisting intermediair optredende pyrodruivenzuur, dat aan de volgende stap: de decarboxylatie kan worden onttrokken, hetzij doordat het in de ademhalingsketen wordt opgenomen, hetzij doordat het in synthetische processen wordt betrokken. In de reactieketens zijn dus hier en daar onmiskenbare vertakkingen aanwezig. Dit brengt dan uiteraard een nieuw probleem aan de orde, namelijk welke factoren bepalen de weg, die het optredende meerszijdige tussenproduct zal inslaan. *Dixon* is geneigd in dit verband in de eerste plaats aandacht te schenken aan de concentraties der uiteenlopende enzym-systemen: hij suggereert bijv., dat de mensheid zich gelukkig moet prijzen, dat in het menselijk spierweefsel — in tegenstelling tot wat voor de gistcel geldt — de melkzuur-dehydrogenase quantitatief t.o.v. de carboxylase zo overheerst, anders toch zou de mensheid uit chronische alcoholisten zijn samengesteld! Op de opmerkelijke consequenties, welke aan het

optreden van vertakkingen en knooppunten in de reactieketens zijn verbonden wordt in de voordracht van *Winkler* nader ingegaan. Ik zal mij dan ook aangaande de wederzijdse beïnvloeding der afzonderlijke reactieketens tot slechts enkele opmerkingen beperken.

In de eerste plaats zij dan gewezen op de reversibiliteit van de overgrote meerderheid der beter bestudeerde primaire processen: de elkaar snijdende reactieketens vormen dus als het ware een aaneengesloten kanalenstelsel, tengevolge waarvan het peil in het ene deel ook het peil in een ander gedeelte beïnvloedt. Het belangrijkste is evenwel, dat er tussen deze wateren geen open communicatie bestaat, maar dat er bepaalde celbestanddelen zijn aan te wijzen, die in dit opzicht de verschillende niveau's reguleren.

Ter toelichting van een dergelijk reguleringsprincipe richten wij het oog op het adenylyltriphsphorzuur (ATP), dat door fosphaatoverdracht in het adenyldiphosphorzuur (ADP) kan overgaan. Het gegeven schema van de alcoholische gisting leidt tot het gezichtspunt, dat per molecuul vergiste glucose 2 moleculen ATP worden gevormd, wat uiteraard inhoudt, dat na enige tijd al het in de cel aanwezige ADP in ATP zal zijn omgezet. Dit betekent, dat dan de verdere omzetting van de glucose zal stagneren, aangezien de dephosphorylering van het phosphoglycerinezuurphosphaat bij gebrek aan ADP niet zal kunnen intreden. De evenwichten van alle voorafgaande reacties zullen dus naar het uitgangspunt worden verschoven, met het resultaat, dat het aanwezige koolhydraat als het ware wordt geconserveerd. Maar nu doet zich als nieuw moment voor, dat is komen vast te staan, dat het ATP bij tal van andere reactieketens is betrokken, in het bijzonder ook bij die, welke leiden tot de synthese van verschillende celcomponenten. Het intreden van dergelijke processen leidt dan weer tot een vorming van ADP, wat dus meebrengt, dat de gisting weer voortgang kan hebben. Op deze wijze wordt dus de intensiteit van de koolhydraat-dissimilatie als het ware aangepast aan de behoeften van de cel.

Een tweede gezichtspunt is dan nog, dat zoals door *Berends* in zijn beschouwing nader wordt toegelicht, het ATP/ADP systeem zeer bijzondere kwaliteiten bezit, in zoverre dat de energierijke fosphaatbinding, welke bij de overgang van ATP in ADP wordt verbroken, de mogelijkheid biedt van een vorming van andere organische fosphaathoudende verbindingen, waarin de fosphaatbinding eveneens nog zeer energierijk is. Dergelijke bijzondere verbindingen vormen dan op hun beurt weer het uitgangspunt voor syntheses van cel-componenten, wier vorming men vroeger bezwaarlijk kon verklaren, daar hun rechtstreeks ontstaan uit de door de cel verbruikte substraten op reacties schenen te berusten, waarbij de vrije energie van het systeem toenam. Het eertijds veel omstreden probleem van de energie-overdracht van de dissimilatorische naar de assimilatorische processen heeft in de laatste 10 jaren een passende materiële basis gekregen en is hierdoor aanmerkelijk dichter bij zijn oplossing gekomen.

Van niet te onderschatten belang voor het verkrijgen van een inzicht in de factoren, welke het harmonische samenspel van de afzonderlijke biokatalysen in de levende cel bepalen zijn de geslaagde pogingen om een specifieke remming van bepaalde enzymstelsels

men te bewerken. Een goed voorbeeld hiervan is de voor het eerst door *Clifton* in 1938 verrichte waarneming, dat het met passende concentraties van stoffen als dinitrophenol en natriumazide mogelijk is de koppeling tussen dissimilatie en assimilatie, met volledig intact laten van eerstgenoemd proces te verbreken. In de laatste jaren is dit gezichtspunt blijkens de onderzoeken van *Loomis* en *Lipmann* van zeer algemene geldigheid gebleken.

Dergelijke ingrepen zijn, zoals het bijzonder fraaie door *Veldstra* gegeven overzicht leert, in later jaren op ongemeen grote schaal en in haast oneindige gevarieerdheid toegepast. In vele gevallen is hierdoor een helder licht geworpen op de onderlinge samenhang der uiteenlopende reactieketens in de cel. Tevens toont *Veldstra's* voordracht overtuigend aan, welke eminente belangen met de studie van dit onderdeel der biokatalyse zijn gemoeid voor het verkrijgen van een beter inzicht in de physiologie van plant en dier, alsmede voor een doelbewuste chemotherapie.

Enkele woorden mogen dan nog worden gewijd aan het vraagstuk van de localisatie der biokatalysatoren in de cel. De gangbare mening dienaangaande is nog veelal, dat in de cel een aanzienlijk deel der eiwitten een in katalytisch opzicht indifferent karakter bezit en dat hiertussen bepaalde biokatalysatoren of biokatalysatorgroepen verspreid voorkomen. Een dergelijke voorstelling wordt uiteraard sterk in de hand gewerkt door het resultaat van uitgebreide cytochemische onderzoekingsreeksen, waarvan het door *Winkler* geciteerde artikel van *Glick* een overzicht geeft. Met de interpretatie van deze uitkomsten zal men evenwel enige voorzichtigheid in acht moeten nemen.

Het is zeker aannemelijk, dat een bepaalde categorie van biokatalytische processen zich op andere plaatsen zullen afspelen dan een tweede categorie, maar men verlieze niet uit het oog, dat de dimensies zelfs van de kleinste celtypen nog altijd geweldig groot zijn in vergelijking met de moleculaire dimensies, wat welhaast uitsluit, dat de biokatalysatoren, welke bij één bepaalde reactieketen betrokken zijn, op verschillende plaatsen in de cel zullen zijn gelocaliseerd. Het bestaan van het zoeven besproken reactie-netwerk brengt in dit opzicht dan nog belangrijke consequenties mede: talrijke biokatalysatoren moeten zeker in elkaars onmiddellijke omgeving zijn gelocaliseerd, maar over welk deel van de cel deze enzymatische structuur zich uitstrekt laat zich niet beoordelen.

Als tegenwicht tegen hen, die inzake de localisatie der biokatalysatoren een extreem standpunt zouden willen innemen, wil ik hier melding maken van de al sinds een achttal jaren door *Virtanen* verdedigde zienswijze, dat, althans bij vele micro-organismen, practisch al het in de cel aanwezige eiwit een enzymatisch karakter bezit. *Virtanen* steunt dit gezichtspunt door proefnemingen, waaraan het stikstofgehalte van de cellen tengevolge van stikstofarme voeding geleidelijk wordt verlaagd, uiteindelijk zelfs wel tot op de helft van het normale gehalte. Het blijkt

nu in deze proeven duidelijk, dat bij vermindering van het stikstofgehalte het gehalte aan sommige enzymen, zoals bijv. saccharase, aanstonds sterk vermindert, doch dat bijv. het essentiële ademhalingsstelsel zich vrijwel handhaaft. *Virtanen's* medewerker *De Ley* vond o.m., dat *B. coli* door verlaging van het stikstofgehalte van de cellen van 13 tot 8 % zijn gistingsvermogen geheel verloor. Uit deze proeven krijgt men weer de indruk, dat er tussen de verschillende enzymen een krachtige concurrentie om de beschikbare N-houdende bouwstenen bestaat, wat inderdaad pleit tegen belangrijke reserves aan „indifferent” eiwitten. Het is duidelijk, dat de zienswijze van *Virtanen* zich goed aansluit bij de eerder genoemde opvattingen van *Spiegelman* over de onderlinge concurrentie bij de enzymvorming in de cel.

Virtanen's opvatting behoeft uiteraard een localisatie van bepaalde enzymsystemen niet uit te sluiten. In dit verband mag niet worden nagelaten nog eens te herinneren aan *Green's* cyclophorase-systeem. De volgende stap in dit opzicht is dan gedaan door een groep Amerikaanse onderzoekers, waartoe o.m. *Schneider* en *Hogeboom* behoren, die er in geslaagd zijn een suspensie van fijngemaakte dierlijke weefsels, als rattenlever e.d., in 0.8 mol saccharose-oplossing door differentiaal-centrifugatie in een viertal fracties van afnemende grootte te scheiden, te weten: 1 kernen, 2 mitochondria, 3 submicroscopische deeltjes, 4 achterblijvende oplosbare fractie. Het belangrijkste hierbij is, dat de korrels in de 2de fractie met grote zekerheid konden worden geïdentificeerd met uit de intacte cel bekende structuur-elementen: de mitochondria. Bij een vergelijkend onderzoek der vier fracties op hun enzymatische activiteit bleek nu, dat in vele gevallen de mitochondria juist wat betreft de ademhalingsenzymen en ook wat betreft enkele synthetische processen verreweg het grootste deel van de totale activiteit van de cel bezaten. Dit schijnt er dus op te wijzen, dat hier voor het eerst de ademhalingscentra in de cel scherp zijn geïdentificeerd. Men heeft de levende cel wel bij een fabriek vergeleken, waarbij de machinefabriek dan in de kern zou zijn gelegen: wanneer men thans de cel met zijn talrijke mitochondria aanschouwt, zou er meer aanleiding bestaan haar te vergelijken met een industrieel centrum, zoals bijv. het Ruhr-gebied!

V. De biokatalyse als voorwaarde voor de handhaving van de „steady state” van de cel.

Tenslotte is er nog één gezichtspunt, waarvoor ik nog even Uw aandacht zou willen vragen. In de voorafgaande uiteenzetting heb ik onwillekeurig de voorstelling gewekt, dat de levende cel kan worden vergeleken met een arsenaal vol van stabiele biokatalysatoren, welke gemeenschappelijk een verwonderlijk samenstel van chemische reacties kunnen ontketen. Er is evenwel alle aanleiding om aan te nemen, dat de werkelijkheid andermaal weer veel indrukwekkender is, in zoverre, dat de katalytisch werkzame eiwitstoffen bij deze chemische avalanche allerm minst

onbewogen blijven. In het bijzondere geval van de spierstofwisseling zijn er zelfs vermoedens uitgesproken, dat hier een chemische reactie wel eens tot een specifieke wijziging van het molecuul van het hierbij betrokken katalysatoreiwit zou kunnen leiden. Er zijn namelijk aanwijzingen, dat hier de katalysator, welke de dephosphorylering van het ATP bewerkt, mag worden geïdentificeerd met het contractiele spiereiwit, het myosine. Men zou hier aan een langgerekt eiwitmolecuul kunnen denken, dat een vormverandering ondergaat, wanneer het daaraan geadsorbeerde substraat reageert. Op deze wijze zou dan een eerste benaderende voorstelling worden verkregen van de voor de spiercontractie zo kenmerkende omzetting van de vrije energie ener chemische reactie in mechanische arbeid.

Maar geheel afgescheiden van dit speciale geval zullen wij goed doen ons ten allen tijde scherp voor ogen te stellen, dat onze biokatalysatoren allermint stabiele agentia zijn, integendeel is hun grote labiliteit in het bijzonder tijdens hun verblijf in de cel uit tal van waarnemingen gebleken. Ik behoef hier slechts te herinneren aan de fraaie onderzoeken van *Schoenheimer* en *Rittenberg*, die in de jaren voorafgaande aan de oorlog met behulp van met N^{15} gemerkte aminozuren zo overtuigend hebben laten zien, dat de eiwitmoleculen in het dierlijke organisme maar een zeer beperkte levensduur hebben, met dien verstande, dat voortdurend bouwstenen worden afgesplitst en door nieuwe uit het milieu opgenomen moleculen worden vervangen. Er is voorlopig alle reden om aan te nemen, dat deze voortdurende afbraak en energievragende resynthese zich ook bij de katalytisch werkzame eiwitstoffen voortdurend afspeelt.

Maar ook waarnemingen van geheel andere aard wijzen hierop. Reeds lang is men er mede vertrouwd, dat een ietwat langduriger onthouding van voedsel

aan de cel tot een ineenstorting, doorgaans als autolyse aangeduid, leidt. In hoeverre onder deze voorwaarden ieder celeitwit spontaan desintegreert, dan wel dat hierbij de specifieke endoproteinasen van de cel, de zgn. kathepsinen, een overwegende functie vervullen, kan hierbij in het midden worden gelaten. Voor ons is het voldoende te beseffen, dat de katalysator-eiwitten slechts „gevechtssklaar” kunnen blijven zolang de voor de resynthese nodige energie beschikbaar wordt gesteld.

Hill heeft naar aanleiding hiervan er al lang geleden op gewezen, dat „ledigheid des duivels oorkussen is” en vervolgt dan: „It may be, if the molecules and the organized systems of the cell are employed in their lawful business, that Satan is unable to preoccupy them unduly with opportunities of autolysis and destructive change. To the extent to which the normal functions and processes are rendered impossible, the chances of bio-chemical crime may be increased and the system so pass from that of an organized state to one in which every part is reacting with every other, every opportunity of an encounter, of a clash, of a breakdown, is taken, and disintegration follows.”

Wij ontmoeten hier dus de uitzonderlijke situatie, dat de in de cel binnendringende voedselcomponenten slechts aan een keten van katalytische omzettingen worden onderworpen tengevolge van de aanwezigheid van talrijke katalytisch werkzame eiwitstoffen, maar dat anderzijds deze biokatalysatoren zich alleen kunnen handhaven ten koste van de voortdurende aanvoer van genoemde componenten.

Donnan heeft in dit verband gesproken van de „harpies of death which sleep in every unit of our living bodies”, en als onder physiologische voorwaarden „their wings are bound and their devouring mouths are closed” dan is dit andermaal een geschenk van de biokatalyse.