

betreffen das Vorgehen bei der statistischen Auswertung der Ringversuche sowie Empfehlung zur Durchführung solcher Versuche.  
— Analyst 103, 268 - 283 (1978). B. Seifert

**Determination of hexachlorophane in cosmetic and toilet preparations.** Committee of the Pharmaceutical Society.

Best. von Hexachlorophen in Kosmetika; Spektralphotometrie. — Die von einer britischen Arbeitsgruppe durchgeführten Untersuchungen zur Bestimmung von Hexachlorophen ( $H_2$ ;  $C_{13}H_6Cl_6O_2$ ) führten zur Angabe einer genauen Arbeitsvorschrift mit folgenden Schritten: 1) Identifizierung von  $H_2$  und möglichen Störsubstanzen durch Dünnschicht-Chromatographie an Kieselgel, 2) Abtrennung des  $H_2$  durch Extraktion (Seifen, Puder, etc.) oder Chromatographie an Sephadex LH20 (Shampoo, Zahnpasta, Emulsionen, etc.), 3) Quantitative Isolierung von  $H_2$  durch Dünnschicht-Chromatographie an Kieselgel (nur erforderlich, wenn bei Schritt 1 Störsubstanzen festgestellt wurden) und 4) Bestimmung von  $H_2$  durch Messen der Extinktionsdifferenz bei 312 nm in saurer (pH 1,4) und schwach alkalischer Lösung (pH 8). Die Ergebnisse von Ringversuchen unter Verwendung von Proben mit 0,1 - 2%  $H_2$  werden mitgeteilt. — Analyst 103, 284 - 295 (1978). B. Seifert

\*\*\*\*\*

### 3. BIOCHEMISCHE UND KLINISCHE ANALYSE

**A simple apparatus for separating and trapping tritiated water from multiple biological samples.** R.C. Thomas, R.W. Judy, H. Harpootlian and G.J. Ikeda.

Best. von Wasserstoff-3 in Biolog. Flüssigkeiten; Szintillationsmessung; Gerät zur Gefriertrocknung. — Tritium is determined in tritiated, water-containing biological samples by determination of the total tritium content and removing the tritiated water by freeze-drying. A simple apparatus, consisting of 24 units and suitable for the routine freeze-drying of 72 tritiated samples, usually of urine, per 9 h-day, is illustrated and described. The tritium content is determined by liquid-scintillation counting. — Int. J. Appl. Radiat. Isotopes 28, 740 - 741 (1977). Upjohn Co., Drug Metab. Res., Kalamazoo, Mich. (USA) H. Meyer

**A simplified method for the determination of urinary plutonium.** J. Batsch and J. Geisler.

Best. von Plutonium in Harn; Szintillationsmessung. — A procedure for the determination of urinary plutonium within two days has been presented. The determination error is less than 10% for the samples containing a few pCi of  $^{239}Pu$  in 500 ml of urine. Concentrations as low as 0,95 pCi per 500 ml could be detected by liquid scintillation with the relative error of 20%. The method is not selective, the contents of uranium and neptunium in the urine could affect the result of the determination. — Chem. Anal. (Warsaw) 22, 1177 - 1180 (1977). Inst. Nucl. Res., Warszawa (Poland)

J. Grzybowski

**Determination of radioactivity in polyacrylamide gel slices mounted on solid supports.** J.G. Leinen and J.L. Wittliff.

Best. von Radionukliden in Polyacrylamidgelen; Szintillationsmessung. — Es wird vorgeschlagen, Szintillationszählungen direkt auf den mit Filterpapier als fester Unterlage versehenen Polyacrylamid-

Gelstreifen, die in den Toluol-haltigen Szintillationscocktail eingelegt werden, durchzuführen. Dieses Verfahren bietet Vorteile gegenüber den bisherigen, umständlicheren Methoden, bei denen das Gel vor der Zählung entweder als Ganzes gelöst oder die zu messende Substanz aus dem Gel herausgelöst werden muß. Bei Proben mit Phosphor-32 und -33 sowie Kohlenstoff-14 wird eine gleiche bis bessere Effizienz erzielt, während der Wirkungsgrad bei Tritium bei etwa 10% (absolut) liegt. Alle Störungen, die nach den beiden anderen Methoden z.B. durch "Fremd"-Agentien wie Wasser, Peroxide, Säuren, Basen, SDS und Triton X-100 eingeschleppt werden können, entfallen bei der direkten Methode. Beispiele der Bestimmung von  $^{32}P$ -RNS werden beschrieben. — Anal. Biochem. 86, 279 - 286 (1978). Cancer Center and Dept. Biochem., Univ., Rochester, N.Y. (USA) W. Czys

**( $^{125}J$ )-Diiodofluorescein isothiocyanate: its synthesis and use as a reagent for labeling proteins and cells to high specific radioactivity.** C.A. Gabel and B.M. Shapiro.

Verwendung von Dijodfluorescein- $^{125}J$ -isothiocyanat zur Radiomarkierung; Proteine, Erythrocyten. — ( $^{125}J$ )-Dijodfluorescein-isothiocyanat kann als chemisch stabiles Reagens zur Radiomarkierung von Proteinen und Zellen (Erythrocyten) unter milden Temperatur- und pH-Bedingungen verwendet werden. In der vorliegenden Arbeit wird die Synthese dieses Reagens beschrieben. Zunächst wird Fluoresceinamin unter der katalytischen Einwirkung von Lactoperoxidase mit Jod-125 umgesetzt; das jodierte Fluorescein reagiert mit Thiophosgen unter Bildung von ( $^{125}J$ )-Dijodfluorescein-isothiocyanat. Beispiele für die Verwendung dieser Verbindungen werden angegeben. — Anal. Biochem. 86, 396 - 406 (1978). Dept. Biochem., Univ., Seattle, Wash. (USA) W. Czys

**Application of pyrolysis gas chromatography — mass spectrometry to the study of metabolic disorders.** T.A. Roy.

Analyse von Harn; Chromatographie, Gas; Fingerprintmuster, Pyrolyse. — Die Nachweiseempfindlichkeit eines Gas-Chromatographen in Verbindung mit einer 9:1 gesplitteten Detektion im EI-Massenspektrometer und Flammenionisationsdetektor kann nach vorausgehender Pyrolyse der zu untersuchenden Urinproben dazu dienen, Fingerprintmuster von Normalurin und von Urin von Patienten mit angeborenen Stoffwechselanomalien miteinander zu vergleichen. An einigen Beispielen wird gezeigt, daß mit Hilfe der genannten Methodenkombination reproduzierbare Peakmuster erhalten werden, die eine wertvolle diagnostische Hilfe darstellen. Eine besondere Probenaufarbeitung ist nicht erforderlich, es genügen für eine Analyse 5 - 15 µl Urin. — Anal. Lett. B 11, 175 - 182 (1978). Dept. Pharm. Chem., Coll. Pharm., Univ. Florida, Gainesville, Fla. (USA) W. Czys

**Extraction of urinary organic acids by combined barium salt precipitation — anion exchange.** J.A. Thompson.

Best. von Organ. Säuren in Harn; Chromatographie, Gas; Kritik an Fällungsmethoden. — In diesem Brief an den Herausgeber wird Kritik an einer Arbeit über "Organische Säuren im menschlichen Urin" A.M. Lawson und R.W.E. Watts: Clin. Chem. 22, 1283 (1976) geübt. Es wird bezweifelt, ob im Clean-up der Fällungsschritt mit Barium weggelassen werden kann, da bei nur einfacher Reinigung über eine DEAE-Sephadex-Säule wichtige Teile des Gas-Chromatogramms von den Sulfat- und Phosphatpeaks überdeckt sind. Es wird der Beweis geführt, daß die Recovery von diversen organischen Säuren nach dieser Reinigungsfällung noch immer zufriedenstellend ist. Die angesprochenen Autoren antworten in der Weise, daß keine wichtige Information durch Überdeckung verloren geht. Weiters fanden sie keine frühzeitige Alterung der verwendeten Trennsäulen

durch übermäßige Mengen an silyliertem Phosphat und Sulfat. Trotz der vom Kritiker angesprochenen Löslichkeitsunterschiede der Bariumsalze, die sicherstellen sollen, daß keine Verluste an organischen Säuren entstehen, präsentieren Lawson et al. Tabellen, daß bei Bariumfällung bei pH 11 große Mengen an verschiedenen Säuren mitgefällt werden. Sie lehnen weiters die Meinung ab, daß es bei gewissen Spezies genügt, sie einfach zu finden, ganz gleich in welcher Restkonzentration, um Krankheiten zu diagnostizieren. Dies sei bestenfalls eine qualitative Methode. — Clin. Chem. 23, 901 - 908 (1977). B.F. Stolinsky Res. Lab. Dept. Pediatrics, Univ. Colorado Med. Centre, Denver, Col. (USA) H. Reif

**Chromatography of sugars in body fluids. III. Stepwise detection of sugars with aniline citrate on paper and thin-layer chromatograms.** V. Vitek and K. Vitek.

Nachw. von Zuckern in Harn; Chromatographie, Papier. — Die papier-chromatographische Methode von A.A. White und W.C. Hess (Arch. Biochem. Biophys. 64, 51 (1956)) zur Identifizierung von Zuckern durch Besprühen mit Anilincitrat modifizieren Verff. im wesentlichen folgendermaßen: Nach aufsteigendem Verfahren mit 3 aufeinander folgenden Systemen erfolgt Auswertung der Farbe und Fluoreszenz nacheinander bei verschiedenen Temperaturen (24-26, 55,55,55, und 105 - 110°C) mit unterschiedlicher Erhitzungsdauer. Dadurch ist eine viel weitergehende Identifizierung der Zucker als mit der Originalmethode möglich. Das Verfahren ist außer an Papier auch an Dünnschichten aus Silicagel oder besser mikrokristalliner Cellulose möglich. — J. Chromatogr. 143, 65 - 76 (1977). Maryland Inst. Emergency Med., Univ. Maryland Hosp., Baltimore, Md. (USA) E. Müller, Marburg

**Fractionation of proteins on Sepharose at low pH and on polytetrafluorethylene.** S. Hjertén.

Trenn. von Proteinen an Sepharose 4B; Chromatographie, Gel. — Membranproteine werden bei niedrigen pH-Werten an Säulen mit Sepharose 4B im System Butanol/Essigsäure/Wasser (1:1:1, pH 2,2) fest adsorbiert. Bei einer Erhöhung des pH-Wertes der Elutionslösung kommt es jedoch nicht zu einer für eine quantitative Fraktionierung geeigneten Desorption. Wasserlösliche Plasmaproteine, die im System 0,01 M Natriumacetatlösung, pH 4,0, an Sepharose 4B fest adsorbiert werden, desorbieren bei der schrittweisen Erhöhung des pH (4,5 - 5,0 - 5,5...8,0) bei sehr guter Auflösung (Abb. des Chromatogramms). Die Ergebnisse der Adsorptions-Desorptionsversuche an Polytetrafluoräthylen sind wenig zufriedenstellend. Die Arbeiten über eine Eignung dieses Sorbens zur Reinigung von Proteinen und t-RNS sind noch nicht abgeschlossen. — J. Chromatogr. 159, 47 - 55 (1978). Inst. Biochem., Univ., Uppsala (Schweden) W. Czysz

**Fractionation of membrane proteins by hydrophobic interaction chromatography and by chromatography on agarose equilibrated with a water-alcohol mixture of low or high pH.** S. Hjertén.

Trenn. von Proteinen; Chromatographie, Affinität; hydrophobe Wechselwirkung bei hohem u. niedrigem pH. — In Erweiterung der vorstehend referierten Arbeit des Verf. (J. Chromatogr. 159, 47 (1978)) wird die Untersuchung der Trenn- und Reinigungsbedingung von nicht wasserlöslichen Membranproteinen unter den Bedingungen der hydrophoben Wechselwirkungs-Chromatographie fortgesetzt. Die Trennungen erfolgen an Sepharose 4B in den Systemen 0,4 M Tris/HCl, pH 7,8/20 mM SDS (Säule 28 x 1,4 cm, Fließgeschwindigkeit 13 ml/h, Fraktionsvolumen 2,2 ml; 21°C) und Butanol/Essigsäure/Wasser (1:1:1 + 0,06 M Natriumacetat) mit selektiver gradueller Variation der Komponenten. Die Ergebnisse werden diskutiert. Die Chromatogramme sind abgebildet. — J. Chro-

matogr. 159, 85 - 91 (1978). Inst. Biochem., Univ., Uppsala (Schweden) W. Czysz

**Multivalent interaction chromatography as exemplified by the adsorption and desorption of skeletal muscle enzymes on hydrophobic alkyl-agaroses.** H.P. Jennissen.

Trenn. von Proteinen, Enzymen an Sepharose 4B; Chromatographie, Gel. — Es wird gezeigt, daß CNBr-aktivierte Sepharose 4B, die mit C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>- $\alpha$ -Aminoalkanen substituiert wurde, Proteine bei geringen und hohen Salzkonzentrationen ( $\mu$  = 0,03 bzw. > 1) durch multivalente Wechselwirkungskräfte adsorbiert (Multivalente Wechselwirkungs-Chromatographie). Die Untersuchungen bezüglich Bindungsgleichgewichten und Desorptionskinetik zeigen, daß der Adsorptions-/Desorptionsmechanismus kompliziert ist. Es werden Möglichkeiten aufgezeigt, die Trennbedingungen so zu optimieren, daß unter den Bedingungen der multivalenten Wechselwirkungs-Chromatographie ein 10 - 20facher Reinigungsgrad für Proteine aus Rohlösungen erzielt wird. — J. Chromatogr. 159, 71 - 83 (1978). Inst. Physiol. Chem., Ruhr-Univ., D-4630 Bochum W. Czysz

**Single-cell proteins from methanol: elucidation of the structure of the unsaturated fatty acids.** L. Cavalli, A. Landone, G. Cancellieri and A. Zotti.

Analyse von Fettsäuren, ungesätt. in Proteinen; Chromatographie, Gas/Massenspektrometrie; Stereochemie der Doppelbindung. — Zur Bestimmung der Lage und der Stereochemie der Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren in Einzeller-Proteinen, die durch Li 70-Hefen auf einem Methanol-Substrat gebildet werden, wird ein gas-chromatographisch/massenspektrometrisches Verfahren angegeben. Die Säuren werden wie früher (Chim. Ind., Milano 58, 172 (1976)) beschrieben extrahiert und in die Methylester überführt, von denen mit Hexamethyldisilazan/Trimethylchlorsilan die TMSO-Derivate gebildet werden. Für die stereochemischen Aussagen werden NMR-Spektren aufgenommen. Etwa 74% der ungesättigten Fettsäuren hatten Strukturen, die denen tierischer Lipide entsprechen. Am häufigsten wurden die folgenden Strukturen gefunden: 9c-C<sub>16:1</sub> (22,5%), 9c-C<sub>18:1</sub> (19,4%) und 9c,12c-C<sub>18:2</sub> (29,2%). Alle Doppelbindungen haben cis-Konfiguration. Die Doppelbindung liegt in C9-C10-Stellung für einfach, und in C9-C10- und C12-C13-Stellung für doppelt ungesättigte Fettsäuren. — Analyst 103, 259 - 267 (1978). EUTECO SpA, 20037 Paderno Dugnano (Italien) B. Seifert

**A rapid and sensitive method for the detection of histone peptides.** D.J. O'Kane, R.G. Levenson and R.F. Jones.

Nachw. von Peptiden in Histonen; Elektrophorese; Färbung mit Fluorescamin. — Peptide, die bei der tryptischen Verdauung der Histone (H<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>A, H<sub>2</sub>B und H<sub>4</sub>) von *Xenopus laevis*-Oocyten gebildet wurden, werden in Elektrophorese-Puffer Pyridin/Essigsäure/Wasser (1:10:89, v/v/v, pH 3,5) suspendiert und auf Celluloseplatten (100  $\mu$ m-Schichtdicke) in der ersten Dimension 1 h bei 40 V/cm und 49°C elektrophoresiert. In der zweiten Dimension wird dünn-schicht-chromatographisch aufsteigend nach E.D. Adamson und H.R. Woodland (J. Mol. Biol. 67, 397 (1974)) entwickelt. In der vorliegenden Arbeit weisen die Verff. nach, daß die Anfärbung der getrennten Peptide mit Fluorescamin wesentlich empfindlicher ist als die Anfärbung mit o-Phthalaldehyd oder Ninhydrin-Cd. Bei der Verwendung von 5  $\mu$ g Histonpeptiden erhält man mit Fluorescamin über 70 Peptid-Flecke; die meisten davon können sogar noch bei Verwendung von 1,25  $\mu$ g Peptiden nachgewiesen werden (entsprechend etwa 80 pMol Histon). Demgegenüber können bei Trennung von 5  $\mu$ g Histonpeptiden mit den beiden anderen Farb-reagentien keine Peptide nachgewiesen werden. Analoge Versuche mit peptischen Verdauungsprodukten der

$\beta$ -Kette von Insulin führten zu ähnlichen Ergebnissen. — Anal. Biochem. 86, 214 - 219 (1978). Dept. Biol., State Univ. New York, Stony Brook, N.Y. (USA) W. Czyns

**Routine chromatography of simple lipids and their constituents.** A. Kuksis.

Best. von Lipiden; Chromatographie; Übersicht. — Verf. gibt eine referierende Übersicht (195 Literaturzitate) der chromatographischen Methoden zur routinemäßigen Trennung und Bestimmung von Lipiden und deren Bestandteile im klinischen Laboratorium. Vor der eigentlichen Analyse sind die Isolierung, Reinigung und Schutz vor Zersetzung wichtig. Es werden behandelt: neutrale und polare Lipide, Sterylester, Acylglyceride, Ceramide, Glycerophospholipide und Trennung der Lipidbestandteile. Verf. bespricht auch die dem biochemischen Forschungslaboratorium vorbehaltenen Methoden. — J. Chromatogr. 143, 3 - 30 (1977). Banting a. Best. Dept. Med. Res., Univ. Toronto, Ontario (Kanada) E. Müller, Marburg

**Mass spectrometry of ether lipids. IV. Field desorption mass spectrometry of aldehydogenic phospholipids.** A.V. Chebyshev, S.P. Kabanov, A.A. Perov, G.A. Serebrennikova, S.E. Kupriyanov, and R.P. Evstigneeva.

Untersuchung von Phospholipiden; Massenspektrometrie; Felddesorption. — Mass-spectra of 1-O-(alk-1-enyl)-2-acyl-sn-glycero-3-phosphorylethanolamines and -phosphorylcholines have been obtained using high electric field desorption. This method provided sufficiently intensive peaks of molecular ions ( $M + 1$ )<sup>+</sup>. A discussion is presented of fragment ion peaks. — Bioorgan. Chim. 3, 1370 - 1373 (1977) (Russisch). S bch Z 1/ZZ 4974 TIB

**Selective adsorption of anions by phospholipids.** L.I. Barsukov, V.I. Volkova, Yu.E. Shapiro, A.V. Viktorov, V.F. Bystrov, and L.D. Bergelson.

Adsorption von Anionen an Phospholipiden; Permeabilität. — Anion effects were studied on the valinomycin - induced cation ( $K^+$  and  $Na^+$ ) permeability of phospholipid liposomes. The permeability has been shown to increase according to the anion order:  $SO_4^{2-}$ ,  $Cl^-$ ,  $CH_3CH(OH)COO^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $ClO_4^-$ ,  $SCN^-$ , the potassium specificity of valinomycin being retained. Anions had great effects on the chemical shift changes induced by paramagnetic cations in the  $^1H$ -,  $^{13}C$ - and  $^{31}P$ -NMR spectra of lecithine liposomes. These effects increased in the order:  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SCN^-$ . The conclusion was drawn that the anion effects were due to the selective adsorption of anions by phospholipid bilayers. This conclusion was confirmed by measuring the electrophoretic mobility of the liposomes. The adsorption parameters were derived from the adsorption isotherms measured. — Bioorgan. Chim. 3, 1355 - 1361 (1977) (Russisch). S bch Z 1/ZZ 4974 TIB

**Structural analysis by mass spectrometry of the major mammalian retinal ganglioside, a sialyl-sialyl-dihexosyl-ceramide.** M. Holm, I. Pascher and B.E. Samuelsson.

Analyse von Gangliosiden; Chromatographie/Massenspektrometrie. — Bisher wurde vermutet, daß das Hauptgangliosid der Säugetier-netzhaut ein Disialyl-lactosyl-ceramid (GD 3) ist. Die vorliegende Untersuchung ergab, daß es sich um ein Sialyl-sialyl-dihexosyl-ceramid handelt. Zwei N-Acetylneuraminsäuren bilden das endständige Disaccharid, der Hauptteil enthält Sphingosin und Stearinsäure. Etwa 75 g Netzhaut aus 100 Rinderaugäpfeln wurden mit Chloroform/Methanol (1:1) extrahiert, der Extrakt alkalisch verseift, mit Essigsäure neutralisiert, auf einer Sephadex-G-25-Kolonne entsalzt und auf Silicagel H chromatographiert. Die Gangliosidfraktion wird durch

DC gereinigt (Chloroform/Methanol/ $H_2O$  (60:30:6)), mit Wasserspray sichtbar gemacht, abgeschabt und mit Chloroform/Methanol/ $H_2O$  (10:10:1) eluiert. 0,3 mg wurden methyliert, ein Teil davon weiter mit  $LiAlH_4$  hydriert, und beide Teile trimethylsilyliert durch Zugabe von Hexamethyldisilazan/Trimethylchlorosilan/Pyridin 2:1:10 (Vol.) in einer Menge von 2  $\mu l/\mu g$  und Stehenlassen bei ZT während 1 h. — Biomed. Mass Spectrom. 4, 77 - 81 (1977). Dept. Neurochem., Univ. Göteborg (Schweden) J. Rasch

**Determination of less than a nanomol of cerebroside by high performance liquid chromatography with gradient elution analysis.** F.B. Jungalwala, L. Hayes, and R.H. McCluer.

Best. von Cerebrosiden; Chromatographie, HPLC. — Diese sehr schnelle und empfindliche Methode ermöglicht die Bestimmung von 0,5 - 10 nMol Fettsäuren, oder Hydroxyfettsäuren enthaltenden Cerebrosiden. Die Cerebroside werden vor der Chromatographie perbenzoyliert. — Arbeitsweise. 0,4 - 10 nMol Cerebrosid-Standard und eine entsprechende Menge Glykolipide enthaltenden Extrakt eindampfen, in  $P_2O_5$ -Vakuumexsikkator 30 min trocknen, mit 50  $\mu l$  10% Benzoylchlorid in wasserfreiem Pyridin versetzen, in einem 60°C Ölbad 60 min erwärmen, Pyridin mit  $N_2$ -Strom entfernen, Rückstand mit alkalischem Methanol (Methanol/1%iges  $Na_2CO_3$ -Lösung, 4:1) und 0,5 ml Hexan versetzen, Röhren zugestopft schütteln, zentrifugieren. Hexan-Phase mit 3 x 0,3 ml alkal. Methanol waschen, Hexan mit  $N_2$ -Strom entfernen, Rückstand in 100  $\mu l$   $CCl_4$  lösen, 10 - 20  $\mu l$  injizieren. 50 cm x 2,1 mm-Säule, gefüllt mit Zipax (Du Pont), 27  $\mu m$ . Säule mit 2,8 - 5,5% Dioxan in Hexan (3 min linearer Gradient) mit 4 ml/min eluieren, Absorption bei 230 nm messen. — J. Lipid Res. 18, 285 - 292 (1977). Eunice Kennedy Shriver Center Mental Retard., Waltham, MA (USA) K. Jeney

**Isolation of cobalamin und cobalamin analogs by reverse affinity chromatography.** J.F. Kolhouse and R.H. Allen.

Abtrenn. von Cobalamin; Chromatographie, Affinität; an Protein-Sepharose. — Zur Isolierung von Cobalamin und Cobalamin-Analogen wird ein kovalent an Sepharose gebundenes Cobalamin-bindendes Protein verwendet. Der Cobalamin-enhaltende Bakterien-Extrakt (Propionibacterium arabinosum) wird auf die modifizierte Sepharose-Kolonne gegeben und sukzessiv bei 4°C mit 0,1 M K-Phosphat, danach mit  $H_2O$ ; 0,1 M Glycin-NaOH pH 10;  $K_3PO_4$ ;  $H_2O$ ; 95%-igem Äthanol und mit  $H_2O$  nachgewaschen. Bei 22°C wird dann Cobalamin mit verflüssigtem Phenol eluiert. Nach Waschen der Phenol-Phase mit  $H_2O$  wird das Cyanocobalamin durch Zusatz von Äther in die  $H_2O$ -Phase extrahiert. Die lyophilisierte Probe wird durch absteigende Papier-Chromatographie in s-Butanol/Eisessig/HCN (880:8,2 ml; 6,2 mMol), gesättigt mit  $H_2O$  aufgetrennt. Die roten Flecken werden mit  $H_2O$  eluiert. Über 70% des Cobalamins werden von der Säule in hochreiner Form zurückgewonnen. — Anal. Biochem. 84, 486 - 490 (1978). Div. Hematology-Oncology, Dept. Internal Med., Washington Univ. School Med., St. Louis, Miss. (USA) J.B.

**Competitive intrinsic factor binding assay technique for cobalamins in natural waters.** R.A. Beck.

Best. von Cobalamin in Wasser; kompetitive Bindungsmethoden; Intrinsic Faktor. — A competitive intrinsic factor binding (CIFB) method for the determination of  $10^{-12}$  g/ml concentration levels of benzyl alcohol extractable cobalamins in natural waters has been developed. Purified cobalamin extracts assayed by the CIFB protocol were 76,9% of those concentrations determined for the same samples using high pressure liquid chromatographic analysis, and demonstrated a 10,98% relative standard deviation for a series of 32 CIFB assays. Application of the CIFB technique to natural waters indicated a sensitivity ranging from 9,98 - 187,98 pg/ml. — Anal. Chem. 50, 200 - 202 (1978). Dept. Chem., State Coll., Framingham, Mass. (USA)

**Differential rapid analysis of ascorbic acid and ascorbic acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method.** M. Terada, Y. Watanabe, M. Kunitomo and E. Hayashi.

Best. von Ascorbinsäure und Ascorbinsäure-2-sulfat in Biolog. Material; Spektralphotometrie; als Osazon. — Zur Bestimmung von Ascorbinsäure und Ascorbinsäure-2-sulfat in biologischem Material wird der Homogenatüberstand in  $\text{HPO}_3$ -Essigsäure mit 0,2%igem 2,6-Dinitrophenolindophenol und eine 2. Probe zusätzlich mit  $\text{KBrO}_3$  versetzt. Nach 1 h werden die Proben 3 h mit Dinitrophenylhydrazin bei 60°C inkubiert. Das gebildete Osazon wird in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gelöst und die Absorption bei 540 nm gemessen. Die Konzentration an Ascorbinsäure bzw. dem 2-Sulfat ergibt sich aus der Absorption der 1. Probe sowie aus der Differenz der Absorption beider Proben. Ascorbinsäure-2-sulfat wird erst durch  $\text{KBrO}_3$  zum Osazon oxidiert. Für die Messungen werden pro Probe nur 1 - 2 µg benötigt. Glucose, Fructose und Xylose sowie Glucuronolaktone stören die Bestimmung nicht, Cystein und Glutathion nur in hohen Konzentrationen. — Anal. Biochem. 84, 604 - 608 (1978). Dept. Pharmacol., Shizuoka Coll. of Pharm. Sci., Shizuoka (Japan) J.B.

**Determination of sub-microgram levels of  $\alpha$ -tocopherol in serum by gas-liquid chromatography with solid injection.** M. Chiarotti and G.V. Guisti.

Best. von  $\alpha$ -Tocopherol in Blutserum; Chromatographie, Gas. — Es wird eine Methode zur Bestimmung kleiner Gehalte an  $\alpha$ -Tocopherol im Serum unter Verwendung eines Festproben-Dosiersystems beschrieben. Die aufbereitete Probe wird in Dichloräthan gelöst und gelangt zur Verdampfung des Lösungsmittels auf ein Metallnetz, welches sich auf einer PTFE-Platte befindet. Das Netz befindet sich danach 5 h in einer mit Pyridin und Essigsäureanhydrid gesättigten Atmosphäre und wird dann in die Festkörperdosiervorrichtung des Gas-Chromatographen gebracht. Für die GC-Analyse benutzen die Autoren eine gepackte Glassäule (silanisiertes GasChrom Q, imprägniert mit 3% SE-30) sowie einen Flammenionisationsdetektor. Die Nachweisgrenze wird mit 0,5 - 0,6 mg Tocopherol in 100 ml Plasma angegeben. — J. Chromatogr. 147, 481 - 484 (1978). Ist. Med. Legale, Univ. Cattolica, Rome (Italien) G. Henze

**Bilirubin and hemoglobin interferences in direct colorimetric cholesterol reactions using enzyme reagents.** M.T. Perlstein, R.J. Thibert and B. Zak.

Best. von Cholesterin; Enzymatische Analyse; Störungen durch Bilirubin und Hämoglobin. — Zwei enzymatische Methoden für Cholesterin wurden überprüft, um den Einfluß von Bilirubin und Hämoglobin auf die gemessenen Extinktionen festzustellen. Methode A benutzt die Trinder-Reaktion zur Bestimmung der enzymatisch gebildeten Peroxide, wie sie von C.C. Allain, L.S. Poon, C.S.G. Chan, W. Richmond, P.C. Fu (Clin. Chem. 20, 470 (1974)) beschrieben worden sind. In der Methode B werden die Peroxide nach der Hantzsch-Reaktion umgesetzt, wie es von V.P. Roeschlau, E. Bernt, W. Gruber (Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12, 403 (1974)) beschrieben worden ist. Dabei wurden sowohl die Spektren der einzelnen Substanzen separat als auch in den Reaktionslösungen aufgenommen. Hieraus wird gefolgert, daß Bilirubin und Hämoglobin teilweise mit den während der Reaktionen entstehenden Peroxiden wie „Pseudoperoxidasen“ reagieren, so daß die auf Cholesterin zurückgeführten Werte der Peroxide vermindert werden. Andererseits können Bilirubin und Hämoglobin selbst als Spender von Anteilen zu den jeweiligen Extinktionen fungieren. — Genaue analytische Empfehlungen werden nicht gegeben. — Microchem. J. 22, 403 - 419 (1977). Dept. Lab. Med., Sinai Hosp., Detroit, Mich. (USA) A. Niemann

**Automated urinary steroid profiles by capillary column gas-liquid chromatography and a computing integrator.** V. Fantl and C.H. Gray.

Best. von Steroiden in Harn; Chromatographie, Gas; automat. — Im Harn können 13 Steroide nebeneinander bestimmt werden. Variationskoeffizient 0,22 - 0,86%. — *Arbeitsweise.* 24 h-Harn auf 1 l verdünnen, pH von 10 - 20 ml Harn mit N NaOH auf 6 - 6,5 einstellen. 2 ml in einem 125 x 18 mm-Rohr mit 30 µl  $\beta$ -Glucuronidase Pasteur (Escherichia coli Enzympräparat) versetzen, 1 h bei 45°C inkubieren, mit 0,35 g wasserfr.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  schütteln. Nach Auflösung des Salzes mit 1 µg Cholesterinbutyrat als innerem Standard versetzen, mit 10 ml  $\text{CHCl}_3$  extrahieren, zentrifugieren. Organische Phase mehrmals (bis zur Farblosigkeit) mit 0,1 ml N NaOH, dann mehrmals (bis zu neutraler Reaktion) mit 4 Tr. Wasser waschen.  $\text{CHCl}_3$  bei 40°C mit  $\text{N}_2$ -Strom entfernen, Rückstand im Vakuumexsikkator trocknen, mit 100 µl Bis-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid und 5 - 10 mg K-Acetat versetzen, 1 h bei 60°C (Al-Block) erwärmen, Silylisierungsreagens mit  $\text{N}_2$ -Strom bei 60°C entfernen, Rückstand in 50 µl Hexan lösen, 2 µl injizieren. 20 m x 0,3 mm-Säule, gefüllt mit OV-101. Einspritzblock 210°C, FID 260°C, Säulentemperatur bis Androsteron-peak erscheint 160°C, dann programmiert mit 10°/min bis Pregnantriolpeak erscheint, dann mit 2,50°/min. Spectra-Physics Autolab System 1 rechnender Integrator. — Clin. Chim. Acta 79, 237 - 253 (1977). Dept. Chem. Pathol., King's Coll. Hosp. Med. School, London (Großbritannien) K. Jeney

**Sterically crowded trialkylsilyl derivatives for chromatography and mass spectrometry of biologically-important compounds.** M.A. Quilliam and J.B. Westmore.

Best. von Steroiden und Nucleosiden; neue Silylderivate für DC, GC und MS. — New derivatives are presented for gas phase analytical chemistry of steroids and nucleosides. tert-Butyldimethylsilyl (TBDMSi), cyclotetramethyleneisopropylsilyl (TMIPSi), and cyclotetramethylene-tert-butylsilyl (TMTBSi) derivatives are examined and compared to trimethylsilyl (TMSi) derivatives. Reagent systems, derivatization procedures, and selectivities for different functional groups are described. The valuable features of the derivatives for both qualitative and quantitative analysis include: greater stability for thin-layer chromatography and isolation of standards, better separations by gas chromatography, and structural information by electron-impact mass spectrometry. — Anal. Chem. 50, 59 - 68 (1978). Dept. Chem., Univ. Manitoba, Winnipeg, Manit. (Canada)

**An improved method for the simultaneous determination of individual 17-oxosteroids and of pregnanediol in urine by gas-liquid-chromatography.** W.R. Külpmann und H. Breuer.

Best. von 17-Ketosteroiden und Pregnandiol in Harn; Chromatographie, Gas; nach SC und DC. — Im Harn können gleichzeitig 17-Oxosteroide und Pregnandiol gas-chromatographisch bestimmt werden. 10 ml Harn werden über Amberlite XAD 2 vorgereinigt, die Steroidfraktion eingedampft, der Rückstand in 5 ml n-Heptan aufgenommen, die Steroide mit 5 ml Wasser ausgewaschen und die Konjugate durch Zusatz von  $\beta$ -Glucuronidase enzymatisch innerhalb von 24 h bei 37°C gespalten. Die freien Steroide werden mit 10 ml Essigsäureäthylester extrahiert, die zurückbleibende wäßrige Phase wird mit 1 M Schwefelsäure auf pH 1 gebracht, mit 1,4 g NaCl versetzt, mit 3 x 5 ml Äthylacetat ausgezogen, die vereinigten Extrakte 24 h bei 37°C inkubiert, mit 1 ml Sodalösung ausgewaschen und die organische Phase auf DC-Platten und Cyclohexan/Äthylacetat/Methanol (10:90:5) als Laufmittel getrennt. Die steroidhaltige Zone wird eluiert, eingedampft, der Rückstand mit 90 µl N-Methyl-N-trimethylsilyl-trifluoracetamid 60 min bei 60°C behandelt und anschließend gas-chromatographisch getrennt. Die Methode ist sehr genau. — J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15, 225 - 231 (1977). Inst. Klin. Chem., Med. Hochschule, Hannover U. Gerhardt

**A faster radioimmunoassay of progesterone in plasma, with use of polyethylene glycol as precipitant.** H.S. Schiller, R. Hasselbrack, R. S. Riggs and M.A. Brammall.

Best. von Progesteron in Blutplasma; Radioimmunologie; Polyäthylenglykol zur Fällung. — Verff. haben die radioimmunologische Bestimmung von Progesteron in Plasma modifiziert indem sie Polyäthylenglykol (Carbowax 6000) zur Trennung von Antikörper-gebundenem und freiem Hormon verwenden. Vorher wird Progesteron aus Plasma mit Äther extrahiert, verdampft und mit einem Gemisch von Hexan/Benzol/Methanol (62:20:13) auf LH-20 Sephadex gereinigt. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß es nicht notwendig ist, die Prozedurverluste bei jeder Probe zu kontrollieren. Die Richtigkeit und Genauigkeit der Methode sind sehr gut. — Clin. Chem. 22, 1659 - 1663 (1976). Depts. Lab. Med. and Obstetrics and Gynecol., Univ. Washington School Med., Seattle, Wash. (USA) J. Hanuš

**A modified method for the fluorimetric determination of pancuronium bromide in plasma.** M.J. Watson and K. McLeod.

Best. von Pancuroniumbromid in Blutplasma; Fluorimetrie. — Bisquarternäre Steroide, hier Pancuroniumbromid, können durch Komplexierung mit Rose-Bengal nach U.W. Kersten, D.K.F. Meijer, S. Agoston (Clin. Chim. Acta 44, 59 (1973)) bestimmt werden. Diese Arbeitsvorschrift wurde von den Autoren geprüft; sie geben folgende Empfehlung: Die gereinigte Rose-Bengallösung ist bei 4°C im Dunkeln 4 Tage haltbar. Die Lösung von Phenol in Chloroform braucht nicht unter Stickstoff aufbewahrt zu werden. Übereinstimmende Ergebnisse werden erhalten nach einer Extraktionszeit von 15 min und kurzem Zentrifugieren. Auch reinstes Aceton ist als Stabilisierungsreagens nicht brauchbar; der Grund konnte aber nicht gefunden werden. Aceton sollte durch Äthanol ersetzt werden. Die Fluoreszenz soll mit der Hg-Linie 546 nm angeregt und bei 566 nm gemessen werden. — Clin. Chim. Acta 79, 511 - 512 (1977). Depts. Clin. Biochem. a. Anaesthesia, Royal Victoria Infirm., Newcastle upon Tyne (Großbritannien) A. Niemann

**The automated analysis of catecholamines: An improved procedure for the simultaneous differential analysis of epinephrine and norepinephrine in tissues, blood and gland perfusates.** R.L. Robinson.

Best. von Epinephrin und Norepinephrin in Biolog. Material; Fluorimetrie; automat. — Das automatisierte Verfahren von B. Andersson, S. Hovmöller, C.G. Karlsson und S. Svensson (Clin. Chim. Acta 51, 13 (1974)) wird modifiziert. Ein Proben-teiler teilt die Probe in 0,25 N Essigsäure in zwei gleiche Teile. Der eine Teil wird mittels Ascorbinsäure stabilisiert durch den Epinephrin-Proben-teiler gepumpt und bei pH 3,5 unter Verwendung eines Acetatpuffers, der Zinksulfat als Katalysator enthält, oxidiert. Unter diesen Bedingungen entwickelt sich nur die Fluoreszenz von Adrenolutin. Der andere Teil wird unter Stabilisierung durch Thioglykolsäure durch den Norepinephrin-Proben-teiler gepumpt und bei pH 7,4 unter Verwendung eines Phosphatpuffers oxidiert. Die auf Noradrenolutin zurückgehende Fluoreszenz wird bis maximal 4% durch Adrenolutin-Fluoreszenz begleitet. — 1 ng eines der beiden Amine kann in Gegenwart von 50 ng des anderen bestimmt werden. — Microchem. J. 22, 514 - 527 (1977). Dept. Pharmacol., Univ. Med. Center, Morgantown, West Virginia (USA) P. Gerhards

**Trennung und fluorimetrische Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin. Kopplung eines Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographen mit einem automatischen Analysensystem.** G. Schwedt.

Best. von Epinephrin und Norepinephrin in Biolog. Flüssigkeiten; Chromatographie, HPLC / Fluorimetrie; automat. — Für Adrenalin, Noradrenalin und Isopropyl-Noradrenalin (interner Standard) werden HPLC-Trennverfahren mit Formiatpuffer (pH 4) als mobile

Phase an den beiden Kationenaustauschern Vydac-401 SA und Nucleosil 10-SA sowie an „reversed-phase“-Kieselgel Nucleosil 10-C<sub>18</sub> (alle Materialien von Machery, Nagel & Co., Düren) ausgearbeitet. Die Detektion erfolgt sowohl bei 280 nm (UV-Detektor) als auch mit einem automatisch-fluorimetrischen Analysensystem (das Fließdiagramm für das Reaktionssystem ist angegeben). Die fluorimetrische Bestimmung der Catecholamine erfolgt über ihre Trihydroxyindol-Derivate. Zur Durchführung dieser Reaktion werden die chemischen Einflüsse des Oxidations-pH-Wertes, das Puffersystem, die Konzentration von katalytisch wirksamen Cu<sup>2+</sup>-Ionen, die Alkalität, die Konzentration und Art des Reduktionsmittels für die Isomerisierung, die Säurekonzentration beim Ansäuern und der Einfluß der Pumpgeschwindigkeit beim Reaktionssystem untersucht und optimiert. Die Chromatogramme sind abgebildet, die zur optischen Trennung und fluorimetrischen Detektion notwendigen Bedingungen als Legenden zu den entsprechenden Abbildungen angegeben. — J. Chromatogr. 143, 463 - 471 (1977). Inst. Arbeitsphysiol., Univ. Dortmund W.H. Mennicke

**Gaschromatographic resolution of the enantiomers of 3-(3,4-dihydroxyphenyl) alanine and its  $\alpha$ -methyl analog.** J. Gal and M.M. Ames.

Best. von Dopa und Methyl-dopa; Chromatographie, Gas; und Enantiomere. — Die Methylierung von (R,S)-DOPA mit Diazomethan führt zu Trimethylderivaten, in welchen die phenolischen Hydroxylgruppen und die Carboxylgruppen methyliert werden. Außerdem werden N-methylierte Nebenprodukte gebildet. Die N-Acetylierung der racemischen Trimethyl-derivate mit (S)- $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -trifluormethylphenylacetylchlorid ergibt zwei diastereoisomere Amide, welche gas-chromatographisch auf einer 1,8 m x 2 mm-Säule mit 3% OV-17 auf Gas-Chrom Q (80 - 100 mesh) bei 200°C getrennt werden können. Erst wird das Diastereomer, welches sich von (S)-(-)-DOPA ableitet, eluiert. Das Verfahren wird auf  $\alpha$ -Methyl-DOPA angewandt. — Anal. Biochem. 83, 266 - 273 (1977). Dept. Pharmacol., School Med., Univ., Los Angeles, Calif. (USA) R.H. Sterzel

**Automated radioimmunoassay of choriomammotropin (human placental lactogen).** A. Castro, I. Prieto, Ch. Wunsch, G. Ertingshausen and H. Malkus.

Best. von Choriomammotropin in Blutserum; Radioimmunologie; automat. Centria-System. — Die radioimmunologische Bestimmung von Choriomammotropin wurde durch Verwendung eines automatisierten Centria-Systems modifiziert. Auf diese Weise können 30 Proben gleichzeitig inkubiert und getrennt werden, so daß man innerhalb von 30 min Ergebnisse bekommt. Zur Herstellung von <sup>125</sup>I-markiertem Hormon wird die Chloramin T-Methode angewendet. Das Centria-System besteht aus drei Teilen: Im ersten werden die Serumproben, Standards, Antiserum und radioaktives Antigen pipettiert, im zweiten erfolgt die Inkubation der Reaktionsmischung und anschließende Trennung auf Dimethylaminoäthyl-Sephadex A-50 (Phosphatpuffer, pH 6,6) und im dritten werden die Aktivitäten gemessen und die Ergebnisse computerisiert. Das neue Verfahren hat sich im Vergleich mit der manuellen Methode als quantitativ, empfindlich und gut reproduzierbar erwiesen. — Clin. Chem. 22, 1655 - 1658 (1976). Dept. Pathol., School Med., Univ. Miami, Fla. (USA) J. Hanuš

**Microchromatography of hemoglobins. VII. Detection of some uncommon hemoglobin variants and two rapid methods for the quantitation of Hb-A<sub>2</sub> in the presence of Hb-C.** E.C. Abraham, T.H.J. Huismann, W.A. Schroeder, L.A. Pace and L. Grussing.

Best. von Hämoglobin-A<sub>2</sub> in Blut; Chromatographie, Flüssig. — Die angewendete Mikrotechnik an Säulen von 0,5 cm Durchmesser benötigt nur 1 - 2 Tr. Blut, die abgemessen oder abgewogen werden. Säulenfüllung ist feinkörnige DEAE- oder CM-Cellulose als DE-52 oder CM-52 von Whatman. Die Füllungen werden vor Beginn des Ver-

suches mit einer bestimmten Entwicklerflüssigkeit ins Gleichgewicht gebracht und nach Aufbringen der Blutprobe mit der geeigneten Entwicklungslösung absteigend entwickelt. Die Durchfließgeschwindigkeit durch die Säule reguliert man auf 10 - 15 ml/h. Zur chromatographischen Entwicklung haben die Autoren verschiedene Lösungen von NaCl, Glycin,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , und Bis(hydroxymethyl)amino-tris-(hydroxymethyl)methan (= sog. bis-tris-Entwickler) verwendet. Für die beschriebenen Trennaufgaben sind zwei NaCl/Glycin-, vier NaCl/bis-tris-, eine Glycin- und zwei  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -Lösungen in größeren Mengen vorbereitet worden. Zur quantitativen Bestimmung werden die getrennten Fraktionen bei 415 nm photometrisch gemessen. Arbeitsvorschriften sind angegeben. — J. Chromatogr. 143, 57 - 63 (1977). Lab. Protein Chem. a. Sickle Cell Center, Med. Coll. of Georgia, Augusta, Ga. (USA) F. Böhmmländer

**A radioligand-binding assay for adenosine in tissue extracts.** R.A. Olsson, C.J. Davis, M.K. Gentry and R.B. Vomacka.

Best. von Adenosin in Biolog. Gewebe; Radioligand-Bindung. — Entsprechend der mittleren Konzentration von 0,2 - 0,3 nmol/g Adenosin in bestimmten biologischen Geweben wurde eine kompetitive Proteinbindungsmethode ausgearbeitet, die es ermöglicht, 1 pmol Adenosin in Gewebeextrakten zu erfassen. Man verwendet hierzu eine Radioligandbindung mit „Adenin-analog-Bindungsprotein“, ein Adenosin-bindendes Protein aus Kaninchen-Erythrocyten und ( $^3\text{H}$ )-Adenosin hoher spezifischer Aktivität. Gestört wird das Verfahren durch Adenin und seine Nucleotide, die deshalb vorher an einer Polyäthylenimin-Cellulosesäule abgetrennt werden. Ein weiterer Reinigungsschritt wird an einer Säule mit Phenyl-dihydroboryl-Cellulose durchgeführt. Schließlich können freies und gebundenes Adenosin durch Filtration durch Celluloseacetat-Membranen bzw. durch Absorption des freien Adenosins an Aktivkohle getrennt werden. Bei Wiederfindensversuchen mit 1,0 - 4,0 pmol Adenosin in Blutextrakten erhielt man nach Durchlaufen aller Reinigungsschritte, die in der Arbeit ausführlich beschrieben sind, sowie der Radioligandbestimmung eine Ausbeute von 100% mit einem absol. Fehler von  $\pm 0,23$  pmol. — Anal. Biochem. 85, 132 - 138 (1978). Dept. Cardioresp. Diseases, Walter Reed Army Inst. Res., Washington, D.C. (USA) W. Czysz

**Analysis of phosphate metabolites, the intracellular pH, and the state of adenosine triphosphate in intact muscle by phosphorus nuclear magnetic resonance.** C.T. Burt, T. Glonek and M. Bárány.

Best. von Phosphatmetaboliten und Adenosintriphosphat in Biolog. Material; Spektrometrie, KMR. — Verff. untersuchten die  $^{31}\text{P}$ -KMR-Spektren von Muskeln. Die Methode wurde bereits früher beschrieben (T. Glonek, T.O. Henderson, A.W. Kruski und A.M. Scannu: Biochim. Biophys. Acta 348, 155 (1974)). Die Bestimmung der im Titel genannten Charakteristiken durch KMR-Spektrometrie stimmt mit den Ergebnissen der chemischen Analyse überein. Die Ermittlung von Phosphat-Metaboliten im Zusammenhang mit pH-Werten und das Verhalten von ATP zeigten interessante Unterschiede beim Vergleich von normalen und dystrophen Muskeln, von Wirbeltieren und Wirbellosen usw. — J. Biol. Chem. 251, 2584 - 2591 (1976). Dept. Biol. Chem. and Res. Resources Center, Univ. Illinois, Med.Center, Chicago, Ill. (USA) J. Hanuš

**Radiometric determination of cytidine 5'-triphosphate in biological materials.** D.E. Leelavathi and R.W. Guynn.

Best. von Cytidin-5'-triphosphat in Biolog. Material; Enzymatische Analyse; mit  $^{14}\text{C}$ . — A simple and sensitive radioenzymatic method is described for the direct determination of cytidine 5'-triphosphate (CTP) in the range of 1 to 9 nMol in perchloric acid extracts of tissue. The method involves a specific conversion of CTP and ( $^{14}\text{C}$ )

phosphorylethanolamine to labeled CDP-ethanolamine using purified CTP: phosphorylethanolamine cytidyltransferase (EC 2.7.7.14). The ( $^{14}\text{C}$ )-CDP-ethanolamine formed is isolated on a Dowex 1-formate column taking advantage of the selectivity of borate complexing. A spectrophotometric method for determining CTP in standard solutions is also described. — Anal. Biochem. 83, 258 - 265 (1977). Dept. Psychiatry, Univ. Texas Med. School, Houston, Texas (USA)

**Enzymatic synthesis of ( $^{14}\text{C}$ )orotidine 5'-monophosphate and its use in the assay of orotate phosphoribosyltransferase and orotidylate decarboxylase.** J.M. Rawls, Jr.

Synthese von Orotidin-5'-monophosphat als Enzymsubstrat; Enzymatische Analyse. — Für die Synthese von ( $^{14}\text{C}$ )-Orotidin-5'-monophosphat (( $^{14}\text{C}$ )-OMP) wird ein schnelles und effizientes Verfahren angegeben. Man erhält das ( $^{14}\text{C}$ )-OMP durch Umsetzung von ( $^{14}\text{C}$ )-Orotsäure (50 mCi/mMol) mit gereinigter Hefe-Orotat-Phosphoribosyltransferase und anorg. Pyrophosphatase. Das radioaktive OMP wird durch Ionenaustausch-Chromatographie an einer Säule mit Dowex 1-X8, 100 - 200 mesh, Formiatform, unter Elution mit Ammoniumformiatlösung, pH 4,5, gereinigt. Das so erhaltene Produkt kann als Substrat für die Bestimmung der Enzymaktivitäten von (*Drosophila*)-Orotat-Phosphoribosyltransferase und Orotidylat-Decarboxylase in einer Reaktionslösung verwendet werden. Entsprechende Arbeitsvorschriften werden angegeben. — Anal. Biochem. 86, 107 - 117 (1978). T.H. Morgan School of Biol. Sci., Univ. Kentucky, Lexington, Ky. (USA) W. Czysz

**A sensitive enzymatic procedure for the quantitative determination of S-adenosylhomocysteine in tissues.** P.H. Yu.

Best. von S-Adenosylhomocystein in Biolog. Material; Enzymatische Analyse. — Das S-Adenosylhomocystein wird aus dem Gewebeextrakt durch Dünnschicht-Chromatographie (n-Butanol/Essigsäure/ $\text{H}_2\text{O}$ ; 12:3:5 bzw. Äthanol/Essigsäure/ $\text{H}_2\text{O}$ ; 64:1:35) isoliert und mit Brenzcatechin-O-methyltransferase,  $^3\text{H}(\text{CH}_3)$ -S-Aldenosyl-L-methionin und Dopa inkubiert. Das radioaktive Endprodukt Methoxytyramin wird mit Toluol-Isoamylalkohol extrahiert und die Radioaktivität gemessen. S-Adenosylhomocystein hemmt kompetitiv das Enzym in Gegenwart von S-Adenosyl-L-methionin. Weniger als 20 ng S-Adenosylhomocystein, das Äquivalent von 1 mg frischer Leber, können nach nachgewiesen werden. — Anal. Biochem. 84, 615 - 621 (1978). Psychiatric Res. Div., Univ. Hosp., Saskatoon, Saskatchewan (Kanada) J.B.

**Analysis of nucleic acid bases by high-performance liquid ion chromatography.** V.P. Demushkin and Yu.G. Plyashkevich.

Best. von Nucleinsäuren; Chromatographie, HPLC. — Optimal conditions for the high-speed chromatography of nucleic acid bases using cation exchangers are described. Bases are resolved on Aminex A-7 with 1 M phosphate in 20% ethanol at pH 3.4 and 70°C and with 1 M phosphate at pH 2.75 and 50°C. The optimal conditions for the same analysis on the anion exchanger Aminex A-28 are by elution with 0.4 M phosphate-borate, pH 8.25m at 45°C. The dependence of the charge of various analogs of the nucleic acid bases on the pH of the solution is tabulated. — Anal. Biochem. 84, 12 - 18 (1978). Shemyakin Inst. Bioorg. Chem., USSR Acad. Sci., Moscow (USSR)

**An apparatus for the fluorescence scanning of ethidium bromide-stained gels.** S.G. Oliver and G.S. McLaughlin.

Best. von Nucleinsäuren mit Äthidumbromid; Fluorescenzmessung der angefärbten Gele. — Beschreibung einer Apparatur zur Fluorescenzmessung der mit Äthidumbromid angefärbten Nucleinsäure-

Banden in Agarose- bzw. Polyacrylamid-Gelen. Die UV-Quelle steht senkrecht zur Geloberfläche und zum Photodetektor. Durch ein Filtersystem wird UV-Licht vom Detektor ferngehalten. Die Fluoreszenz ist der RNS- bzw. DNS-Konzentration proportional. Die Methode ist 4mal empfindlicher als die Methode der Absorptionsmessung. — Anal. Biochem. 82, 271 - 277 (1977). Dept. Mol. Biol. and Biochem., Univ. Irvine, Calif. (USA) J.B.

**Large-scale isolation and partial purification of type C RNA viruses on hydroxyapatite. — 1. Biochemical characterization.** R.G. Smith and S.A. Lee.

Reinigungstrennung von Ribonucleinsäure-Virus an Hydroxylapatit; Gewebekulturen. — Zur Anreicherung und teilweiser Reinigung des Typ C RNA-Virus aus großen Volumina Gewebekulturlösungen wird ein chromatographisches Verfahren angewendet, das ohne spezielle Einrichtungen durch Batch-weise Adsorption an Hydroxylapatit durchgeführt werden kann. Die einfache Methode ist als Alternative zu der erheblich aufwendigeren Abtrennung durch Zentrifugieren mit einem Hochgeschwindigkeits-Rotor entwickelt worden. — Anal. Biochem. 86, 252 - 263 (1978). Lab. Tumor Cell Biol., Nat. Cancer Inst., Bethesda. (USA) W. Czynsz

**Resolution of single- and double-stranded RNAs in buoyant cesium trichloroacetate.** R.L. Burke, P.J. Anderson and W.R. Bauer.

Trenn. von Ribonucleinsäuren; Auftriebsgradientenmethode. — Zur Trennung von ein- und zweisträngigen Ribonucleinsäuren und auch von Desoxyribonucleinsäuren wird ein Auftriebsverfahren beschrieben, das mit Dichtegradienten in wässrigen Cäsiumtrichloroacetatlösungen, pH 7,5, arbeitet. Die Auftriebswerte einer Reihe von RNS werden angegeben. Sie nehmen in der Reihe Protein < DNS < Doppelstrang-RNS < einsträng. RNS zu. — Anal. Biochem. 86, 264 - 270 (1978). Dept. Microbiol., Health Sci. Center, State Univ. N.Y., Stony Brook, N.Y. (USA) W. Czynsz

**Alternating current polarographic investigation of polysaccharides in DNA.** B. Malfroy and J.A. Reynaud.

Best. von Polysacchariden in Desoxyribonucleinsäure; Polarographie. — Das Wechselstrompolarographische Verhalten von Polysacchariden allein bzw. in Gegenwart von DNS wird eingehend untersucht. Der zweite Peak bei -1650 mV (GKE) wird betrachtet. Aufgrund der Ergebnisse wird ein schnelles, empfindliches und bequemes Verfahren zur Titration von Polysacchariden allein bzw. in Gegenwart von DNS entwickelt, welches dem colorimetrischen Verfahren überlegen ist. Es wird in  $5 \times 10^{-3}$  M Tris +  $5 \times 10^{-3}$  M Natriumacetat mit NaCl als Trägerelektrolyt gearbeitet. Bei Messungen mit einer überlagerten Spannung von 10 mV und einer Frequenz von 78 Hz ist es möglich, Polysaccharide bis hinunter zu Konzentrationen von 2 µg/ml nachzuweisen. Die Höhe des Peaks ist unabhängig von der verwendeten Ionenstärke, dem pH-Wert, der Konzentration und dem Molekulargewicht der gleichzeitig anwesenden DNA. Das Verfahren kann daher unter sehr unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt werden. Bei der Bestimmung von Polysacchariden in DNS von E.coli findet man Konzentrationen von 2 - 160 µg/ml. — Anal. Biochem. 84, 1 - 11 (1978). Centre. Biophys. Mol., Orleans (Frankreich)

R.H. Sterzel

**Rapid method for the direct observation of aryl-β-glucosidases after separation on polyacrylamide gel.** H. Verachtart, K. Ramasamy, P. de Schuttere and J. Bevers.

Nachw. von Aryl-β-glucosidase; Elektrophorese, Gel; verbesserte

Lokalisierungsmethode. — Es wird die Möglichkeit zum direkten Nachweis von Aryl-β-glucosidasen nach Elektrophorese auf Polyacrylamidgel beschrieben. Das Gel besteht aus einem Gemisch von 1.) 30% Acrylamid + 0,8% N,N'-Methylen-bis(acrylamid) in Wasser, 2.) 1% N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin in einem Tris-Glycin-Puffer (pH 8,3), 3.) dest. Wasser, 4.) 0,48% Ammoniumpersulfat-Lösung und 5.) 5 mM o-Nitrophenyl-β-D-glucopyranosid. Die Aryl-β-glucosidase-haltige Probe wird mit einigen Körnchen Saccharose auf die Gelschicht aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgt bei konstantem Strom und wird unterbrochen, wenn o-Nitrophenol den Boden des Gel-Zylinders erreicht hat. Das Verfahren eignet sich für Enzymuntersuchungen. — J. Chromatogr. 147, 443 - 445 (1978). Lab. Industr. Microbiol. and Biochem., Univ. Leuven, Heverlee-Louvain 3030 (Belgien) G. Henze

**A sensitive fluorescence assay for the simultaneous and separate determination of arylsulphatase A and B.** H. Christomanou and K. Sandhoff.

Best. von Arylsulfatasen mit 4-Methylumbelliferyl-sulfat; Fluorimetrie. — Das fluorimetrische Verfahren mit 4-Methylumbelliferyl-sulfat (MUS) zur Bestimmung von Arylsulfatasen A und B in Leukocyten beruht auf dem unterschiedlichen Einfluß von Silberionen auf das Fluoreszenzspektrum beider Enzyme. — *Arbeitsweise.* Leukocyten normaler und pathologischer Individuen wurden zur Herstellung von Enzym verwendet. Die Homogenate wurden dialysiert und isoelektrisch getrennt. Man prüfte die Fraktionen mit dem automatischen Autoanalyser von Eppendorf auf Aktivitäten der Enzyme AS-A und AS-B. Zur Bestimmung der gesamten AS-Aktivität in den Fraktionen fügte man zu dem Gemisch aus 200 µl, 100 µl und 10 mM MUS, 50 mM Natriumacetat-Puffer pH 5,0 und bis zu 50 µl Enzymlösung. Zur Bestimmung der AS-B Aktivität fügte man AgNO<sub>3</sub> bis zur Endkonzentration von 0,3 mM hinzu. Das freigesetzte Methylumbelliferon wurde im Eppendorf-Fluorimeter bei der Excitations-Wellenlänge 365 nm und Emissions-Wellenlänge von 440 nm bestimmt. Im Konzentrationsbereich von 0,1 - 0,3 mM AgNO<sub>3</sub> ist nur AS-B aktiv. AS-A wird zu 96% inhibiert. — Clin. Chim. Acta 79, 527 - 531 (1977). Max-Planck-Inst. Psychiatrie, Neurochem. Abt., München A.E. Bühler

**Determination of dopamine-β-hydroxylase activity by means of chromatogram-spectrofluorometric measurement in remission.** M. Kopun and M. Herschel.

Best. von Dopamin-β-hydroxylase in Blutserum; Chromatographie, Dünnschicht/Fluorimetrie. — Ein neues, hochempfindliches, spezifisches Bestimmungsverfahren für die Dopamin-β-hydroxylase-Aktivität in menschlichem Serum wird entwickelt. Tyramin wird als Substrat verwendet. Das Produkt der enzymatischen Hydroxylierung Octopamin wird durch Reaktion mit DNS-Cl in ein fluoreszierendes Produkt umgewandelt, welches dünnsschicht-chromatographisch auf Silicagel-Dünnschichten in Chloroform/Triäthanolamin (5:1) gereinigt wird. Die Platten werden zur Bewahrung der Fluoreszenz mit n-Butanol/Triäthanolamin (4:1) gesprüht. Die Intensität der Fluoreszenz des Dansyl-Octopamins wird direkt auf der Dünnschichtplatte gemessen. Bis hinunter zu 8 ng Octopamin kann genau bestimmt werden. Die Anzeige ist bis 400 ng Octopamin linear. — Anal. Biochem. 85, 556 - 563 (1978). — Inst. Anthropol. Humangenetik., Univ. Heidelberg R.H. Sterzel

**One step purification procedure of elastase from pancreatic powder by affinity chromatography.** K. Katagiri, T. Takeuchi, K. Taniguchi and M. Sasaki.

Reinigung von Elastase aus Pankreaspulver; Chromatographie, Affinität. — Pankreas-Elastase aus dem kommerziell erhältlichen Acetonpulver "Pancreatin" wird durch einen einstufigen Prozess an einer



Trialanyl-CH-Sepharose 4B-Säule durch Affinitäts-Chromatographie gereinigt, Trypsin und Chymotrypsin werden an der gleichen Säule abgetrennt. Der Aktivitätsverlust der gereinigten Elastase ist gering. Durch anschließende Polyacrylamid-Scheibenelektrophorese wird die Reinheit und Einheitlichkeit des Produkts nachgewiesen. — Anal. Biochem. 86, 159 - 165 (1978). Dept. Internal Med., School Med., Nagoya City Univ., Nagoya (Japan) W. Czyns

**Determination of enteropeptidase activity in human duodenal aspirates.** R.J. Barns and R.G. Elmslie.

Best. von Enteropeptidase in Duodenum; Spektralphotometrie; als Trypsin. — Bekannte Mengen von Enteropeptidase wurden in Anwesenheit von Ca in Galle enthaltender bzw. gallenfreier Duodenum-Flüssigkeit nach der Methode von R.J. Barns und R.G. Elmslie (Biochim. Biophys. Acta 321, 624 - 631 (1973) und 445, 815 - 818 (1976) bzw. Clin. Chim. Acta 58, 165 - 171 (1975)) bestimmt. Die Aktivität wurde aufgrund der Aktivierung von Trypsinogen durch Enteropeptidase gemessen. Wiederfindungsrate im Falle von gallenfreien Proben  $113,2 \pm 9,8\%$ , in Anwesenheit von zugegebener Galle  $109,5 \pm 16,1\%$ . — Clin. Chim. Acta 79, 55 - 61 (1977). Dept. Surgery, Univ. Adelaide, Queen Elisabeth Hosp., Woodville (Australien) K. Jeney

**Hexokinases and myosin: A problem of isoenzyme separation.** J.P. Trayer.

Trenn. von Hexokinase-Isoenzym, Myosin-Isoenzym; Chromatographie, Affinität. — Verf. gibt eine zusammenfassende Darstellung von Untersuchungen zur Affinitäts-Chromatographie von Hexokinase-Isoenzymen und Myosin-Isoenzymen an Sepharose-gebundenen N-Aminoacylglucosamin-Derivaten (Propionyl-, Butyryl-, Hexanoyl- und Octanoylglucosamin). — J. Chromatogr. 159, 93 - 99 (1978). Dept. Biochem., Univ., Birmingham (Großbritannien) W. Czyns

**A sensitive assay for histone methyltransferase.** J.C. Wallwork, C. T. Lee and J.A. Duerre.

Best. von Histonmethyltransferase; Szintillationsmessung; mit S-Adenosyl-methyl-<sup>3</sup>H-methionin. — A method is described for the assay of histone methyltransferase using soluble histones as substrate. The precipitation of the methylated protein on chromatography paper allows for greater sensitivity and more rapid sample processing than have previously been reported. After incubation of the enzyme in the presence of radioisotopically labeled S-adenosyl-L-methionine and soluble rat brain histone, the residual S-adenosyl-L-methionine is removed by extensive washing in 1.1 M trichloroacetic acid. The amount of methyl groups incorporated into histones is measured by liquid scintillation counting. This procedure can probably be used to assay other protein methylases. A comparison is made between this assay and one using chromosomal bound histones as substrates. — Anal. Biochem. 84, 103 - 110 (1978). Ireland Res. Lab., Dept. Microbiol. School Med., Univ. North Dakota, Grand Forks, N.D. (USA)

**Zum Nachweis der Isoenzyme der Kreatinphosphokinase (CPK) nach Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien.** J. Schmechta.

Nachw. von Kreatinphosphokinase; Elektrophorese; Isoenzyme, Testsatz. — Das Auftreten des Isoenzyms MB der Kreatinphosphokinase (CPK) im Serum gilt als weitgehend spezifisches Kennzeichen für einen Myokardinfarkt. Durch Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien vom Typ Phoro Slide (Millipore GmbH, Neu Isenburg, BRD) lassen sich die CPK-Isoenzyme in Organproben (Herzmuskel,

Skelettmuskel, Gehirn) und im Serum bei einfacher Technik mit geringem Zeitaufwand reproduzierbar darstellen. Der Chemikalienverbrauch ist bei Verwendung eines kommerziellen Testbesteckes ("CPK aktiviert Monotest", Boehringer Mannheim GmbH, BRD) außerordentlich gering. Die Empfindlichkeit des Verfahrens reicht bei der fluoreszenzoptischen Sichtbarmachung der CPK-Isoenzyme des Serums bis unter 10 U/l und liegt bei der Darstellung mittels der Formazanreaktion bei etwa 50 U/l. — Z. Med. Labor-Diagn. 18, 180 - 183 (1977). Abt. Gerichtl. Med., Ztr. Las., Nat. Volksarmee, Bad Saarow.

**The estimation of leucine aminopeptidase produced by molting nematodes with labeled leucinamide as substrate.** W.P. Rogers and F. Brooks.

Best. von Leucinaminopeptidase; Szintillationsmessung; <sup>14</sup>C-Leucinamid als Substrat. — Zur Bestimmung von LAP wird die Probe (ca. 60 mg) in 0,8 ml 0,02 M Na-Tetraboratlösung +  $10^{-3}$  M MgCl<sub>2</sub> 20 min bei 38°C unter N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> = 60:40 geschüttelt. Dann ersetzt man das Inertgas durch Luft, gibt 0,2 ml 0,05 M L-Leucinamid (U-<sup>14</sup>C) zu und beendet die Bebrütung nach 90 min. Davon werden 175 µl entnommen und mit 25 µl 40%iger Cl<sub>3</sub>HCOOH enteiweißt. Nach Zentrifugieren führt man 20 µl der Papierelektrophorese (Whatman 3MM, Pyridin/Eisessig/H<sub>2</sub>O = 1 : 10 : 89, 40 min, 500 V, 50 mA) zu. Als Markiersubstanz dient Orange 11 (1 µl einer 0,1%igen Lösung). Das mit Ninhydrin lokalisierte L-(U-<sup>14</sup>C)-Leucin wird aus dem Papier mit 12 ml Bray-Lösung eluiert und am Szintillationszähler gemessen. Diese Methode ist empfindlicher als die bisher eingesetzten Verfahren. — Microchem. J. 22, 245 - 248 (1977). Dept. Entomol., Waite Agric. Res. Inst., Glen Osmond, S.A. (Australien) F. Kreuzig

**Flow cytometric measurement of peptidases with use of 5-nitrosalicylaldehyde and 4-methoxy-β-naphthylamine derivatives.** F.A. Dolbeare and R.E. Smith.

Best. von Peptidasen mit 5-Nitrosalicylaldehyd; Fluorimetrie; 4-Methoxy-β-naphthylaminderivate als Substrat. — Zur Bestimmung von Peptidasen in einzelnen Zellen oder Zellsuspensionen wird aus dem Substrat R-4-Methoxy-β-naphthylamin (R = Benzyloxycarbonyl-Ala-Arg-Arg-, Leu-, Pro-Arg- oder Lys-Ala-) 4-Methoxy-β-naphthylamin freigesetzt. Dieses reagiert mit 5-Nitrosalicylsäure zu einer unlöslichen, fluoreszierenden Schiff'schen Base ( $\lambda_{ex} = 363$  nm,  $\lambda_{em} = 590$  nm), die an der Zelle fixiert wird. Der optimale pH-Bereich liegt zwischen 6,0 und 6,5. Die Methode hat sich zur Differenzierung von Leucocytenpopulationen bewährt. — Clin. Chem. 23, 1485 - 1491 (1977). Biomed. Res. Div., Lawrence Livermore Lab., Univ. Livermore, Calif. (USA) F. Kreuzig

**Fluorimetric determination of alkaline phosphatase activity and pyrophosphate in ultramicro samples.** J.C. Pita, O.E. Muniz and E. Kohen.

Best. von Phosphatase, alkal., Pyrophosphat in Ultramikro-Proben; Enzymatische Analyse/Fluorimetrie. — Die Anwendung mikroskopischer Fluoreszenzmessungen auf biologische Substrate wird beschrieben. Eine Mikroküvette für 50 nl- 2,0 µl Lösung wird entwickelt. Diese besteht aus zwei mikroskopischen Trägergläschen, von denen in eins ein Fenster geschnitten ist. Die Gläser werden aufeinander geklebt und die Probe in das Fenster gebracht. In dieser Anordnung wird alkalische Phosphatase-Aktivität in Knorpelflüssigkeiten bestimmt. Dazu werden die 5 - 10 ng Proben mit 40 nl Substrat bei 37°C 15 und 30 min inkubiert. Das Substrat ist 0,1 M an NaHCO<sub>3</sub>/CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-Puffer (pH 10,2); 0,5 M an α-Naphthylphosphat und 5 mM an MgCl<sub>2</sub>. Die Reaktion wird durch Zusatz von 0,1 M NaOH gestoppt. Die Empfindlichkeit des Verfahrens erlaubt jede Kombination mit enzymatischen Reaktionen,



bei denen NADPH oder NADH entsteht. Es wird daher auch zur enzymatischen Bestimmung von Pyrophosphat in 100 nl-Proben bei Konzentrationen von  $5 \times 10^{-7}$  M eingesetzt. — *Mikrochim. Acta* 1977 II, 379 - 388. Dept. Med., Univ. Miami School Med., Miami, Fla.; Papanicolaou Cancer Res. Inst. Miami, Fla. (USA)

R.H. Sterzel

**A rapid batch assay for cyclic AMP phosphodiesterase.** D.R. Zisman.

Best. von Phosphodiesterase, cycl. AMP; Szintillationsmessung; mit  $^3\text{H}$ -AMP. — Zur Bestimmung von cyclischer AMP-Phosphodiesterase wird die Probe mit cyclischem  $^3\text{H}$ -AMP inkubiert, die Reaktionslösung auf eine Polyäthyleniminocellulose-Platte gegeben, die Platten mit 10 mMol LiCl gewaschen und die auf der Platte verbliebene Radioaktivität mit Hilfe eines Röntgenfilmes gemessen. Unter diesen Bedingungen werden über 99% des cyclischen AMP ausgewaschen, während über 50% des Reaktionsproduktes  $5'$ -AMP auf der Platte zurückbleiben. Jeder Versuch wird entsprechend der  $5'$ -AMP-Rückgewinnung und des  $^3\text{H}$ -cAMP-Hintergrundes korrigiert. Vorteile dieser Methode sind Schnelligkeit der Ausführung sowie die Möglichkeit, eine Vielzahl von Proben gleichzeitig untersuchen zu können. — *Anal. Biochem.* 84, 551 - 558 (1978). Dept. Bacteriol. Immunol., Univ., Berkeley, Calif. (USA) J.B.

**Direct visualization of IMP-GMP:pyrophosphate phosphoribosyltransferase in polyacrylamide gels.** B. Vasquez and A.L. Bieber.

Nachw. von Phosphoribosyltransferase; Elektrophorese, Gel; direkte Sichtbarmachung. — IMP-GMP-Pyrophosphatphosphoribosyltransferase wird nach gel-elektrophoretischer Auftrennung im Gel mit 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat inkubiert und nachfolgend mit einer 0,01 M  $\text{MnCl}_2$ -Lösung getränkt. Das Reaktionsprodukt Pyrophosphat wird dabei ausgefällt und kann anhand der Lichtstreuung bei indirekter Beleuchtung vor einem dunklen Hintergrund bei 580 nm gemessen werden. 0,003 Einheiten des Enzyms können noch sichtbar gemacht werden. Die Methode ist zum Nachweis anderer anorganischer Pyrophosphate als Reaktionsprodukt freisetzender Enzyme geeignet, sofern Substrate und Cofaktoren in Gegenwart von  $\text{Mn}^{2+}$  keine Niederschläge bilden. — *Anal. Biochem.* 84, 504 - 511 (1978). Dept. Chem., Ariz. State Univ., Tempe, Ariz. (USA) J.B.

**A rapid assay for prolyl 3-hydroxylase activity.** J. Risteli, K. Tryggvason and K.I. Kivirikko.

Best. von Prolyl-3-hydroxylase; Szintillationsmessung; als  $^3\text{H}$ HO. — Zur Bestimmung von Prolyl-3-hydroxylase (Rattennebenierenrinde) wird das Enzym mit  $^3\text{H}$ -Prolin-markiertem Prokollagen (Hühnerembryonen) in Gegenwart von Ascorbat, Oxoglutarat, Katalase und Rinderserum-Albumin inkubiert. Das bei der Reaktion gebildete tritierte  $\text{H}_2\text{O}$  wird durch Vakuumdestillation abgetrennt und die Radioaktivität bestimmt. Die Bildung von THO ist der Enzym-Konzentration und der Zeit linear. Die  $K_M$  für dieses Substrat beträgt  $3,4 \cdot 10^{-8}$  Mol. Zwischen THO- und der  $^3\text{H}$ -3-Hydroxyprolin-Bildung (Hydrolyse des Proteines nach THO-Abtreibung und Aminosäureanalyse) besteht Linearität. Eine nichtspezifische THO-Freisetzung durch im Präparat anwesende Prolyl-4-hydroxylase kann ausgeschlossen werden. Die Methode ist einfach, empfindlich und reproduzierbar. — *Anal. Biochem.* 84, 423 - 431 (1978). Dept. Med. Biochem., Univ. Oulu (Finnland) J.B.

**Nachweisgrenzen proteolytischer Aktivitäten.** E. Schwerdtfeger.

Best. der Nachweisgrenzen von Proteasen; Enzymatische Analyse.

— Verschiedene Methoden der Bestimmung von Proteaseaktivitäten wurden jeweils am gleichen Protease-Präparat (Bromelin, Trypsin,  $\alpha$ -Chymotrypsin, Pepsin) geprüft, um die Erfassungsgrenzen zu ermitteln. Wie erwartet, erhöhen längere Inkubationszeiten die Empfindlichkeit der Methoden, jedoch können auch schon bei Inkubationszeiten von nur 1 Minute beispielsweise nach Trypsinkonzentrationen von ca. 100 ng/ml gemessen werden. Unerwartet war das Ergebnis, daß sich auch mit relativ einfachen Mitteln (Milch als Substrat, Messung der freigesetzten Aminogruppen mit TNBS) noch sehr geringe Enzymkonzentrationen erfassen lassen. Da diese Methode praktisch für alle untersuchten Proteasen von optimaler Empfindlichkeit ist, dürfte sie insbesondere für die Untersuchung von Proteasen unbekannter Natur von Bedeutung sein. — *Mikrochim. Acta* 1977 II, 363 - 372. Bundesrosch. Anst. Ernährung, Geisenheim

**Optical assay of pyruvate carboxylase in crude liver homogenates.** J. Berndt, B. Messner, T. Turkki and E. Weissmann.

Best. von Pyruvat-Carboxylase in Leberhomogenat; Spektralphotometrie; als Oxalatoacetat. — Zur Bestimmung von Pyruvat-Carboxylase wird ein indirektes spektralphotometrisches Verfahren angegeben. Das bei der durch die Pyruvat-Carboxylase aus Pyruvat und  $\text{CO}_2$  in Gegenwart von ATP gebildete Carboxylierungsprodukt Oxalatoacetat wird in Gegenwart von überschüssigem Acetyl-CoA und Citrat-Synthase zu Citrat umgewandelt. Nach Entfernung des restlichen Pyruvats mit  $\text{KBH}_4$  und des Proteins mit  $\text{HClO}_4$  spaltet man das Citrat mit Citrat-Lyase in Oxalatoacetat und Acetat und bestimmt Oxalatoacetat nach S. Dagley (in "Methoden der Enzymat. Analyse", H.U. Bergmeyer ed., Verlag Chemie, 1974, S. 1607). — *Anal. Biochem.* 86, 154 - 158 (1978). Inst. Biochem., Ges. f. Strahlen- u. Umweltforsch., D-8000 München 2 W. Czysz

**A pH-rate determination of the activity-pH profile of enzymes. Application to yeast pyruvate decarboxylase demonstrating the existence of multiple ionizable groups.** F. Jordan, D.J. Kuo and E.U. Monse.

Untersuchung von Pyruvat-Decarboxylase; Aktivität-pH-Profil. — Pyruvat-Decarboxylase (E.C. 4.1.1.1) aus Hefe wandelt Pyruvat unter Einbeziehung von Thiaminpyrophosphat und  $\text{Mg}^{2+}$  als Cofaktoren in Acetaldehyd (+  $\text{CO}_2$  und  $\text{OH}^-$ ) um. Zur Feststellung des Ionisationsstatus des Enzyms kann die Messung der pH-Abhängigkeit der Enzymaktivität beitragen. Aufgrund der durch die Enzymreaktion erfolgenden Freisetzung von Hydroxylionen wird die pH-Drift in der Inkubationslösung bestimmt und hieraus eine zeitabhängige Kurve log Aktivität vs. pH aufgestellt. Aus dem Verlauf dieser Kurve zwischen pH 5 und 7, gemessen bei 30°C, lassen sich mindestens 4 pK-Punkte ableiten (5,3; 5,8; 5,95; 6,25, alle mit einer möglichen Unsicherheit von  $\pm 0,2$  pK-Einheiten). Dies steht im Widerspruch zu früheren Arbeiten, in denen von nur 2 pK-Punkten ausgegangen wird. — *Anal. Biochem.* 86, 298 - 302 (1978). C.A. Olson Chem. Labs., Rutgers-State Univ., Newark, N.J. (USA) W. Czysz

\*\*\*\*\*