

it has been possible to effect 16 analyses in 8 hours. Fig. 2 shows two diagrams of the same serum run simultaneously.

It may finally be mentioned that agar jelly membranes as described can be used as filters. A hot solution of agar may for example be washed in this manner.

W. LOTMAR

Research Laboratory, Kern & Co. Ltd., Aarau (Switzerland)

¹ A. POLSON, *Nature*, 168 (1951) 996; 170 (1952) 628.

² A. POLSON, *Biochim. Biophys. Acta*, 13 (1954) 451.

³ W. LOTMAR, *Rev. Sci. Instr.*, 22 (1951) 886; *Plasma*, 1 (1953) 209.

Received February 4th, 1955

Untersuchungen mit Radiophosphor zum Stoffwechsel zweier verschiedener Fraktionen der Desoxyribonucleinsäure am Walker-Carcinom der Ratte

In neuerer Zeit ist es auf verschiedene Weise gelungen, die Desoxyribonucleinsäure (DNS) eines Gewebes in mehrere differente Fraktionen zu zerlegen¹⁻⁷. So gelang es BENDICH^{1,2,3}, aus verschiedenen Organen der Ratte nach schonender Isolierung zwei DNS-Fraktionen zu gewinnen, von denen die eine (DNS₁) in 0.87%-iger Kochsalzlösung ausfällt, während die andere (DNS₂) in Lösung bleibt. Mit Hilfe radioaktiv markierten Formiats konnte BENDICH zeigen, dass diese beiden DNS-Fraktionen in einem Organ verschieden grosse Umsatzraten haben, also in unterschiedlicher Menge pro Zeiteinheit neugebildet werden. Dieser Befund verdient besonderes Interesse, da die DNS wesentlicher Bestandteil des genetischen Materials im Zellkern ist.

In eigenen Versuchen wurde das von BENDICH angegebene Fraktionierungsverfahren³ angewandt, um die Wirkung von Röntgenstrahlen auf die DNS-Synthese im Walker-Carcinom der Ratte zu untersuchen. Durch Röntgenstrahlen wird bekanntlich die Neubildung der DNS gehemmt^{8,9,10}. In unseren Versuchen wurde Wistar-Ratten mit subcutan transplantiertem Walker-Carcinom* Radiophosphor (³²P) als Orthophosphat intraperitoneal injiziert. Bei den bestrahlten Tieren (isolierte Bestrahlung der Tumoren jeweils mit 5000 r bei 180 kV, 10 mA, 0.5 mm Cu gefiltert; Dosisleistung 290 r/min) wurde die Injektion unmittelbar nach der Bestrahlung vorgenommen. Die Tötung der Tiere erfolgte jeweils 2 Std. nach der Injektion, um so die frühzeitige Strahlenwirkung und bei der Bewertung der Befunde zuverlässig den anabolischen Teil des DNS-Umsatzes zu erfassen¹¹.

Die Ergebnisse, welche in Tabelle I zusammengefasst sind, zeigen, dass nach 2 Std. im ungestört wachsenden Tumor die beiden DNS-Fraktionen praktisch gleich viel ³²P eingebaut haben. Unter dem Einfluss von Röntgenstrahlen wird jedoch die Neubildung der DNS₂ stärker gehemmt als die der DNS₁. Die Synthesehemmung durch ionisierende Strahlen trifft demnach im Walker-Carcinom die DNS keineswegs gleichmässig. Dieser Befund bestätigt zugleich, dass die beiden nach dem Verfahren BENDICH's isolierten DNS-Arten stoffwechselfähig verschiedenartige Fraktionen darstellen.

TABELLE I

VERGLEICH DER SPEZIFISCHEN AKTIVITÄTEN (MITTELWERTE MIT STANDARDABWEICHUNGEN)
VON DNS₁ UND DNS₂ IM UNBESTRAHLTEN UND IM RÖ-BESTRAHLTEN WALKER-CARCINOM DER RATTE
Einzelheiten zur Methodik, insbesondere zur Isolierung der Nucleinsäuren in ausreichender radiochemischer Reinheit, werden an anderer Stelle ausführlich beschrieben¹².

	Zahl der Versuchstiere	Spezifische Aktivität (Zählrohrimpulse min/mg P)		Verhältnis der spez. Aktivitäten DNS ₁ /DNS ₂
		DNS ₁	DNS ₂	
Ungestört wachsender Tumor	7	5 220 ± 300	5 160 ± 480	1.0
Bestrahlter Tumor	8	2 550 ± 160	2 080 ± 120	1.23 (P < 0.01)

Die an normalen Geweben der Ratte durchgeführten Untersuchungen BENDICH's hatten ferner gezeigt, dass in Organen mit hoher Mitoserate die DNS₁ mengenmässig im allgemeinen überwiegt

* Das Walker-Carcinom wurde uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. HOEPKE, Direktor des Anatomischen Instituts der Universität Heidelberg, zur Verfügung gestellt.

gegenüber der DNS₂. Bei den geschilderten Versuchen am Walker-Carcinom der Ratte sowie bei einer Reihe menschlicher Uterusmyome* wurde ebenfalls das Mengenverhältnis DNS₁/DNS₂ bestimmt. Die rel. stark streuenden Werte lagen für das Walker-Carcinom zwischen 1.7 und 3.5, für die Myome zwischen 2.2 und 4.4. Diese nun an Tumoren erhobenen Befunde entsprechen den Beobachtungen BENDICH's an normalen Geweben.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, danken wir für die Mittel, welche die Durchführung unserer Versuche ermöglichten.

Institut für Medizinische Physik und Biophysik der Universität,
Göttingen (Deutschland)

RUPERT BACKMANN
EBERHARD HARBERS

¹ A. BENDICH, *Exp. Cell Research, Suppl.* 2 (1952) 182.

² A. BENDICH UND P. J. RUSSELL, *Fed. Proc.*, 12 (1953) 176.

³ A. BENDICH, P. J. RUSSELL UND G. B. BROWN, *J. Biol. Chem.*, 203 (1953) 305.

⁴ J. BARTON II UND C. R. DAWSON, *Fed. Proc.*, 12 (1953) 174.

⁵ E. CHARGAFF, C. F. CRAMPTON UND R. LIPSHITZ, *Nature*, 172 (1953) 289.

⁶ G. L. BROWN UND M. WATSON, *Nature*, 172 (1953) 339.

⁷ C. F. CRAMPTON, R. LIPSHITZ UND E. CHARGAFF, *J. Biol. Chem.*, 211 (1954) 125.

⁸ H. V. EULER UND G. V. HEVESY, *Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab Biol. Medd.*, 17 (1942) No. 8.

⁹ H. V. EULER UND G. V. HEVESY, *Arkiv Kemi, Mineral., Geol.*, 17A (1944) No. 30.

¹⁰ H. VERMUND, C. P. BARNUM, R. A. HUSEBY UND K. W. STENSTROM, *Cancer Research*, 13 (1953) 633.

¹¹ E. HARBERS, *Klin. Wschr.*, 32 (1954) 392.

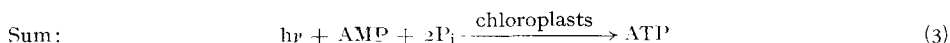
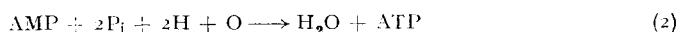
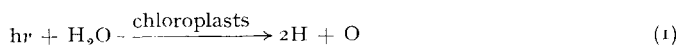
¹² E. HARBERS UND R. BACKMANN (im Druck).

Eingegangen den 10. Februar 1955

* Die Myome entstammten frischem Operationsmaterial, das uns von der Univ.-Frauenklinik Göttingen freundlicherweise überlassen wurde.

Photosynthetic phosphorylation as an anaerobic process

Photosynthetic phosphorylation (PSP), the conversion of light energy into the chemical energy of the pyrophosphate bonds of adenosine triphosphate (ATP) independently of carbon dioxide fixation or the reoxidation of partly or wholly reduced products of photosynthetic CO₂ fixation, has been found to occur in isolated chloroplasts^{1,2}. In equations 1, 2, and 3 photosynthetic phosphorylation was represented¹ as independent of molecular oxygen since no evolution or uptake of oxygen was observed.



where AMP and P_i represent adenosine-5-phosphate and orthophosphate respectively.

Although the reaction was therefore expected to proceed anaerobically, a sustained rate of phosphorylation was obtained only under aerobic conditions in the early experiments². Recently, however, we have identified some of the cofactors of photosynthetic phosphorylation. When these were added and conditions so arranged that traces of oxygen originally present or formed during the reaction were eliminated (shaking in a nitrogen atmosphere in the presence of chromous chloride), PSP proceeded at rates equal to or greater than those observed aerobically. We conclude therefore that PSP is an anaerobic process.

Table I shows that in the presence of flavin mononucleotide (FMN), Mg⁺⁺, and ascorbate anaerobic PSP exceeds aerobic phosphorylation. Table II presents evidence on the quantitative requirements for the various cofactors. FMN (replaceable by riboflavin at the same molar concentration) was required in amounts small enough to leave no doubt that it acted as a catalyst. The concentration of ascorbate which was needed for full stimulation was relatively large, but we have found that ascorbate is not used up during anaerobic phosphorylation and must, therefore, be assigned a catalytic function. For example, we have observed an esterification of 11.5 μM PI while at the same time only 0.2 μM ascorbate disappeared. Mg⁺⁺ was replaceable by Mn⁺⁺ or Co⁺⁺ up to the point where manganese and cobalt phosphates precipitated; the efficacy of higher concentrations corresponding to those found optimal for Mg⁺⁺ could not be tested. Mg⁺⁺ may be assumed to have a catalytic function, probably in the transfer of phosphate groups³.