

ladung, die unter üblichen Bedingungen erfolgten (Wechselstromfrequenz 50 Hz, Spannung ca. 10 kV, Dicke des Dielektrikums ca. 2 mm, Entladungsstrecke 3 mm) bei der Prüfung der Entladung mit dem Kathodenstrahl-Oszillographen nicht die geringste Deformation der sinusförmigen Spannungskurve gefunden. Kann also eine Verminderung von Φ als Begleiterscheinung der Entladung ausgeschlossen werden, so darf andererseits die Zunahme von Φ als Sinusfunktion der Zeit (Wechselstrom) während der sehr kurzen Zeit Δt der rasch verlaufenden Entladung im Gasraum vernachlässigt werden:

$$\frac{d\Phi}{dt} \Delta t = \frac{dE \sin 2\pi \nu t}{dt} \Delta t = 2\pi E \cos 2\pi \nu t \nu \Delta t \sim 0,$$

wobei $E \sin 2\pi \nu t$ die Spannung des Wechselstromes mit dem Scheitelwert E bedeutet. Aus den beiden Feststellungen ergibt sich die für die folgenden Ableitungen grundlegende Annahme, das Potential Φ sei während der Entladung in Gasraum konstant.

Das dielektrische System sei gekennzeichnet durch die Kapazitäten pro cm^2 Fläche

$$C_1 = \frac{\epsilon_1}{4\pi d_1}; \quad C_2 = \frac{\epsilon_2}{4\pi d_2}; \quad C_3 = \frac{\epsilon_3}{4\pi d_3};$$

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_1} + \frac{1}{C_2} + \frac{1}{C_3},$$

welche bei Potentialen Φ gemessen werden, bei denen noch keine Entladungen im Gasraum erfolgen. Der Zustand des Systems lässt sich erfassen immer kurz vor (Zustand α) und kurz nach (Zustand β) einer Entladung im Gasraum. Aufbauend auf der Annahme der Konstanz von Φ während eines solchen Stromstosses findet man, dass eine Reihe von n Entladungen bei ansteigendem Potential Φ und eine gleiche Reihe von n entgegengesetzt gerichteten Entladungen bei absteigendem Potential Φ eintritt, wobei Φ als Spannung eines Wechselstroms genommen ist; das gibt während einer Periode $2n$ Entladungen. Für eine Entladung No. x in der Reihe von n Entladungen bestehen die Ansätze:

$$q_{\alpha,x} = q_{\beta,x-1};$$

$$\Phi_{\alpha,x} = A = \frac{Q_{\alpha,x} - q_{\beta,x-1}}{C_2}; \quad \Phi_{\beta,x} = B = \frac{Q_{\beta,x} - q_{\beta,x}}{C_2};$$

$$\Phi_{\alpha,x} = \frac{Q_{\alpha,x}}{C} - \frac{q_{\beta,x-1}}{C_2} = \frac{Q_{\beta,x}}{C} - \frac{q_{\beta,x}}{C_2} = \Phi_{\beta,x}.$$

Daraus leiten sich die Beziehungen ab:

$$q_{\beta,x} = q_{\beta,0} + x(A-B) \frac{C_2}{1-C/C_2};$$

$$q_{\beta,0} = -q_{\beta,n} = -\frac{E C/C_2 - B}{1-C/C_2} C_2;$$

$$Q_{\alpha,x} = AC_2 + q_{\beta,x-1}; \quad Q_{\beta,x} = BC_2 + q_{\beta,x};$$

$$\Phi_{\alpha,x} = A \frac{C_2}{C} + q_{\beta,x-1} \cdot \left(\frac{1}{C} - \frac{1}{C_2} \right);$$

$$\frac{n}{2} = \frac{E C/C_2 - B}{A - B};$$

$$i_L = 2n\nu(A-B) \frac{C_2}{1-C/C_2} = 4\nu \frac{E - B C_2/C}{C_2/C - 1} \cdot C_2;$$

$$w_L = 2\nu \sum_{x=1}^n \Phi_x \int_{Q_{\alpha,x}}^{Q_{\beta,x}} dQ = 2\nu \sum_{x=1}^n \int_{q_{\beta,x-1}}^{q_{\beta,x}} \Phi dq = \nu n \frac{A^2 - B^2}{1 - C/C_2} C_2.$$

In diesen Gleichungen bedeutet q die elektrische Flächendichte auf der Grenzfläche c des Dielektrikums gegen den Gasraum, Q die elektrische Flächendichte auf der Kondensatorbelegung a , ν die Frequenz des Wechselstromes, i_L die Stromstärke des Leitungsstromes pro cm^2 Kondensatorfläche und w_L dessen Leistung. In den Gleichungen stecken die weiteren Annahmen, dass die Dielektrizitätskonstante ϵ_2 des Gases unverändert bleibe, sowie dass die Potentiale A und B definierte Grössen seien, gleich gross für die Entladung von c nach b wie für die Entladung von b nach c . Die Ausdrücke, in denen E enthalten ist, wurden unter der Voraussetzung abgeleitet, dass im Moment, da Φ den Scheitelwert E erreicht, im Gasraum noch ein Stromstoss ausgelöst werde, dass also $\Phi_{\alpha,n} = E$ sei, eine Bedingung, die experimentell leicht zu verwirklichen ist. Trifft diese Voraussetzung nicht zu, so ist in den betreffenden Gleichungen E durch den Ausdruck $E - P$ zu ersetzen, wobei

$$0 < P < (A - B) C_2/C.$$

Die in den Gleichungen zum Ausdruck gebrachte Theorie gibt den von verschiedenen Autoren^{1,2} beobachteten intermittierenden Verlauf der Entladungen im Gasraum qualitativ wieder, der auf Grund der von WARBURG³ begründeten Theorie nicht zu erklären ist.

Experimentelle Untersuchungen zur Prüfung der sich aus der Theorie ergebenden quantitativen Folgerungen sind im Gange.

Summary. After the discussion of a hypothesis, a description is given, in mathematical terms, of the intermittent process of electric discharges that occur under the influence of an alternating electric field in a gas enclosed between two dielectrics.

J. R. PETER

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel (Schweiz), 28. September 1962.

² E. BRINER, V. SPRETER und B. KOVALIV, Bull. Soc. Chim. Belg. 62, 55 (1953).

³ E. WARBURG, Z. Physik 32, 252 (1925); Ber. deutsch. physik. Ges. 5, 382 (1903). – E. WARBURG und G. LEITHÄUSER, Ann. Physik (4) 26, 1 (1909).

The N-Terminal Groups of Glutamic Aspartic Transaminase

Glutamic aspartic transaminase, prepared from pig heart according to LIS¹, appears to be a homogeneous protein in electrophoresis¹ and in the ultracentrifuge². In order to identify and estimate the N-terminal residues of this enzyme, the fluorodinitrobenzene method has been applied.

The protein was treated with 2,4-dinitrofluorobenzene in ethanol-water – following the original procedure of SANGER³ – for 4–5 h at room temperature; the suspension was then centrifuged and the protein washed with water,

¹ H. LIS, Biochim. biophys. Acta 28, 191 (1958).

² P. FASELLA, unpublished data.

³ F. SANGER, Biochem. J. 39, 507 (1945).

acetone and ether. Hydrolysis was then carried out in 6*N* HCl at 105°C in sealed evacuated tubes. The ether extract and the aqueous phase of the DNP-protein hydrolyzate were run on paper chromatograms both in the tert-amyl alcohol-phthalate system⁴ and in the *n*-butanol-NH₃ and phosphate buffer 0.75 *M*, pH 6 bidimensional system⁵.

Only DNP-alanine appeared to be present in the ether extract; di-DNP-histidine and DNP-arginine were absent from the aqueous phase. No glycine or proline degradation products were detectable, even when the DNP-protein was hydrolyzed for 4 h in concentrated HCl at 105°C. No DNP-cysteic acid was found after dinitrophenylation and hydrolysis of performic acid oxidized protein. It was therefore concluded that alanine is the only N-terminal residue in glutamic aspartic transaminase.

In order to determine the number of DNP-alanine residues per mole of protein, some DNP-protein preparations were carefully dried and weighed after water, acetone and ether washings. From the lysine, histidine, tyrosine and cysteine content of transaminase⁶, about 85% of the weight could be attributed to the original protein. Hydrolysis was then carried out as described before; at the same time control tests were made in which known amounts of DNP-alanine were submitted to hydrolysis together with DNP-protein. The ether extracts of hydrolyzates were run on paper chromatograms in the solvent system of BLACKBURN and LOWTHER⁴, and, after elution of the DNP-alanine spots in 1% NaHCO₃, the resulting solutions were examined for absorption at 360 mμ in a Beckman DU spectrophotometer. Yields, calculated from the optical density, were related to the yields of synthetic DNP-alanine.

From three assays, the values of 1.0, 1.0 and 0.9 moles of DNP-alanine have been found per 58,000 g of protein, i.e. per mole of coenzyme. The molecular weight of glutamic aspartic transaminase, as determined at the ultracentrifuge by JENKINS et al.⁷, is about 110,000, so that the enzyme appears to be formed by two polypeptide chains, that carry the same N-terminal residue.

Riassunto. Su una preparazione altamente purificata di glutammico aspartico transaminasi del cuore di porco sono stati determinati i gruppi N-terminali con il metodo di SANGER. È stata dimostrata la presenza di una mole di alanina N-terminale per 58 000 g di proteina, cioè per una mole di coenzima. La transaminasi risulterebbe pertanto costituita da due catene polipeptidiche.

C. TURANO, PAOLA VECCHINI, and ANNA GIARTOSIO

Istituto di Chimica Biologica, Università di Roma, and Centro Studi di Enzimologia del C.N.R., Roma (Italy), August 9, 1962.

⁴ S. BLACKBURN and A. G. LOWTHER, *Biochem. J.* **48**, 126 (1951).

⁵ J. W. DAVIES and G. HARRIS, *Arch. Biochem. Biophys.* **74**, 229 (1958).

⁶ C. TURANO, A. GIARTOSIO, F. RIVA, and P. FASELLA, unpublished data.

⁷ W. T. JENKINS, D. A. YPHANTIS, and I. W. SIZER, *J. biol. Chem.* **234**, 51 (1959).

Isolierung eines hochgereinigten Polypeptides mit uterusrelaxierender Wirksamkeit

Sowohl COHEN¹ als auch FRIEDEN² haben in den letzten Jahren gereinigte Hormonpräparate mit Relaxinwirkung, PAUL und WIGVIST³ solche mit uterusrelaxierender Aktivität dargestellt. Wir nehmen eine neue Mitteilung COHENS⁴ über weitere Fortschritte bei der Isolierung und Reinigung von Relaxin zum Anlass, um über die Isolierung eines durch sehr hohe uterusrelaxierende Aktivität ausgezeichneten Polypeptides aus Ovarien gravider Schweine zu berichten, um so mehr, als die Frage der Identität oder Verschiedenheit von Relaxin und «Uterus-Relaxing-Factor» bisher nicht eindeutig beantwortet ist.

Von verschiedenen Reinigungsverfahren, die von uns untersucht worden sind⁵, erwies sich das im nachstehenden Schema dargestellte als das günstigste, da es auch grössere Mengen des hochgereinigten Polypeptides zu erhalten erlaubt.

Bei der analytischen Untersuchung mit Hilfe der Niederspannungselektrophorese bei den pH-Werten 1,8, 4,7, 5,8, 9,0 und 11,0 in der Apparatur von WIELAND⁶ erwies sich das gewonnene Polypeptid (Komponente IIIa und IIIb) als stark basisch und als einheitlich; bei den Anfärbungen mit Ninhydrin, mit Amidoschwarz, nach der Chlormethode und mittels der Sakaguchi-Reaktion zeigte sich stets nur eine einzige Bande, während das Peptid mit dem Pauli-Reagens eine nur sehr schwache

Färbung gab. Auch bei der Elektrophorese auf acetylierter Membranfolie bei pH 4,7 und pH 5,8 in der Versuchsanordnung nach HANNIG und GRASSMANN⁷ war keine Heterogenität nachweisbar. Als einheitlich erwies sich das Polypeptid ebenfalls bei der Papierchromatographie bei 18°C in den Lösungsmittelsystemen sek.-Butanol/1% TCA (organ. Phase) (Rf 0,7), sek.-Butanol/0,2% TCA (organ. Phase) (Rf 0,4). Die elektrophoretische Untersuchung des isolierten uterusrelaxierenden Faktors mittels der Stärkegel-Hochspannungselektrophorese⁸ liess nach Anfärbung mit Amidoschwarz und 12 h fortgesetzten Auswaschens neben der Hauptbande noch 2 sehr schwache langsamer kathodisch wandernde Begleitkomponenten sichtbar werden. Um auch noch diese geringfügigen Verunreinigungen des uterusrelaxierenden Polypeptides zu entfernen, bedarf es einer mehrfach wiederholten Chromatographie der Komponente IIIb an Sephadex.

¹ H. COHEN und W. KLEINBERG, *Arch. Biochem. Biophys.* **91**, 17 (1961).

² E. H. FRIEDEN, N. R. STONE und N. W. LAYMAN, *J. biol. Chem.* **235**, 2267 (1960).

³ K. G. PAUL und N. WIGVIST, *Acta endocrin.* **35**, 435 (1960).

⁴ H. COHEN, *Acta endocrin., Suppl.* **67**, 107 (1962).

⁵ DB-Patent angemeldet am 9. 2. 1962.

⁶ TH. WIELAND, E. FISCHER und L. WIRTH, *Angew. Chem.* **60**, 313 (1948).

⁷ Broschüre der Membranfiltergesellschaft, Göttingen.

⁸ R. J. BARRETT, H. FRIESEN und E. B. ASTWOOD, *J. biol. Chem.* **237**, 432 (1962).