

**Zusammenfassung.** Die Untersuchung tierischer Sinnesorgane mit elektrophysiologischen Methoden kann die funktionellen Eigenschaften des Rezeptors als solchen klarlegen, sie berechtigt aber nicht zu Schlussfolgerungen über die funktionelle Bedeutung des betreffenden Sinnesorgans im Leben des Tieres. Zu solchen Schlussfolgerungen sind Verhaltensversuche erforderlich. Die Nichtbeachtung dieses unterschiedlichen Charakters der nach

beiden Methoden erhaltenen Resultate führt zu scheinbaren Widersprüchen und zu unberechtigter Kritik, wovon einige rezente Beispiele angeführt werden.

S. DIJKGRAAF

Laboratory of Comparative Physiology, Utrecht (Netherlands), August 30, 1964.

## PRO EXPERIMENTIS

### Application of Oscillographic Polarography in Photochemistry of some Deoxyribonucleic Acids

The influence of ultraviolet light (UV) and some photo-dynamically active organic dyes on the nucleic acids has been studied by numerous investigators<sup>1-5</sup>. Studies were carried out using different techniques but no electrochemical method has been used until now. The purpose of the following communication is to present results concerning the application of alternating current oscillographic polarography<sup>6</sup> in the investigation of the effects of UV-irradiation on the deoxyribonucleic acids (DNA's) isolated from two various sources.

The apparatus Polaroscope P 524 (Křížek, Prague) was used with a mercury dropping electrode, allowing us to follow the functions  $dE/dt$  against  $E$ . Samples of DNA's were analysed in the 0.5M ammonium formate medium (pH=7.0) using a normal polarographic cells and the oscillograms were registered photographically<sup>6</sup>.

All measurements were performed with original negatives magnified by optical projection. For this study the DNA's from calf thymus and *Escherichia coli* B were used in the dilute standard buffer (0.015M sodium chloride + 0.0015M sodium citrate). Solutions of DNA's were irradiated 2-2.5 mm in depth on open dishes at a distance

of 5 cm using a Philips TUV, 30 W, low pressure mercury lamp with an emission maximum at the wavelength of 2.537 Å. At the same time a part of the DNA solutions mentioned above was left as a control without UV-irradiation. Samples were denatured by heating at different temperatures for 10 min and quickly cooled in an ice bath<sup>8</sup>. The concentrations of DNA's were 50 µg/ml of the dilute standard buffer.

If highly polymerized DNA is subjected to alternating current oscillographic polarography in an ammonium formate medium, it produces a characteristic anodic indentation on the oscillogram (Figure 1, D) for which

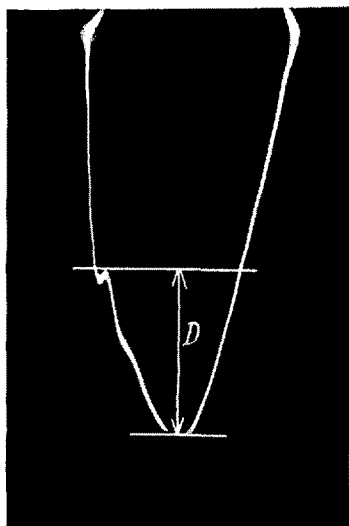


Fig. 1. Anodic part of the  $dE/dt = f_1(E)$  curve of the calf thymus DNA in 0.5M ammonium formate medium (pH=7.0).  $D$  = the depth of indentation.

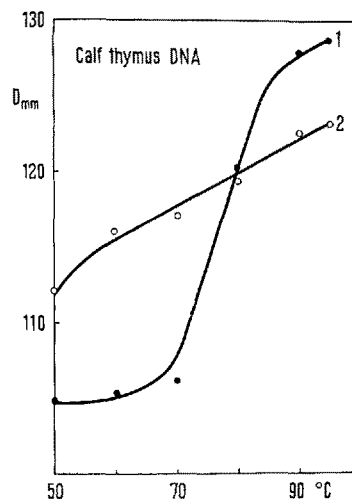


Fig. 2. Heat denaturation curves of the calf thymus DNA, derived from the oscillographic measurements. Curve 1: DNA before the UV-irradiation. Curve 2: DNA after 60 min of UV-irradiation.

<sup>1</sup> E. CHARGAFF and J. N. DAVIDSON, *The Nucleic Acids*, vol. III (New York 1960).

<sup>2</sup> J. MARMUR, W. F. ANDERSON, L. MATHEWS, K. BERNIS, E. GAJEWSKA, D. LANE, and P. DOTY, *J. cell. comp. Physiol.* **58**, 33 (1961).

<sup>3</sup> L. GROSSMAN, D. STOLAR, and K. HERRINGTON, *J. Chim. phys.* **58**, 1078 (1961).

<sup>4</sup> D. R. COCHRAN, A. BUZZELL, and M. A. LAUFFER, *Biochim. biophys. Acta* **55**, 755 (1962).

<sup>5</sup> M. I. SIMON and H. VAN VUNAKIS, *J. mol. Biol.* **4**, 488 (1962).

<sup>6</sup> J. HEYROVSKÝ and R. KALVODA, *Oscillographische Polarographie mit Wechselstrom* (Akad. Verlag, Berlin 1960).

deoxyguanylic acid bound in the DNA molecule is responsible<sup>7-9</sup>.

The course of heat denaturation of DNA's mentioned above has been followed quantitatively, because the anodic indentation becomes deeper by denaturation<sup>8-9</sup>. The increasing depth of the anodic indentation was then plotted as a function of temperature of the DNA solution (Figures 2 and 3, curve 1). The heat denaturation of DNA samples after 60 min of the UV-irradiation followed, using the same method. The steep portion of the heat denaturation curves of both DNA's studied were shifted

to a lower temperature after the UV-irradiation as compared with the denaturation curves of non-irradiated samples<sup>10</sup> (Figures 2 and 3, curve 2). Similar changes in the course of the denaturation curves of several bacterial DNA's after the UV-irradiation have been found earlier spectrophotometrically<sup>2</sup>.

UV-light causes photochemical alterations of pyrimidine residues of DNA which weaken the stability of the double-stranded DNA molecule. This effect was followed by a number of techniques<sup>2</sup> up to the present time. The above results published by us yield further experimental possibilities for the physico-chemical assay of nucleic acids based on the oscillographic estimations<sup>11</sup>.

**Zusammenfassung.** Die Denaturationskurven von Desoxyribonukleinsäuren aus Kalbsthymus und *Escherichia coli* wurden mit Hilfe der oszillographischen Polarographie untersucht. Nach UV-Bestrahlung der Nukleinsäuren erfolgte eine Verschiebung des Anstiegbereiches nach niedrigeren Temperaturen.

D. KALÁB

Research Department of Bioveta, n.p., Ivanovice na Hané (Czechoslovakia), March 17, 1964.

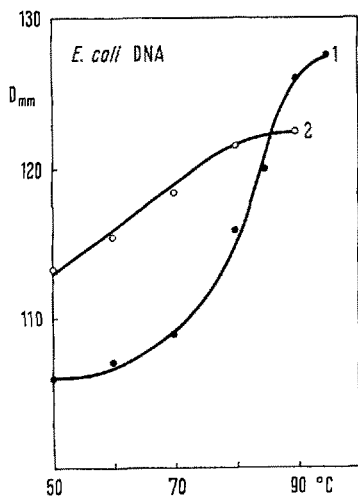


Fig. 3. Heat denaturation curves of *Escherichia coli* B DNA, derived from the oscillographic measurements. Curve 1: DNA before the UV-irradiation. Curve 2: DNA after 60 min of UV-irradiation.

<sup>7</sup> E. PALEČEK, Nature 188, 656 (1960).

<sup>8</sup> E. PALEČEK, Biochim. biophys. Acta 51, 1 (1961).

<sup>9</sup> E. PALEČEK, Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften, in press.

<sup>10</sup> D. KALÁB, (Lecture) Colloquium on oscillographic polarography, Smolenice (Czechoslovakia), September 1963.

<sup>11</sup> Acknowledgment. I should like to express my thanks to Dr. E. PALEČEK, from the Biophysical Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Brno, for kindly providing the deoxyribonucleic acid samples and for valuable discussions.

### Dünnschichtstärkelektrophorese

Seit der ersten Veröffentlichung von SMITHIES im Jahre 1955<sup>1</sup> ist die Stärkelektrophorese in jedem biochemischen Labor, hauptsächlich bei der Peptid- und Proteinforschung, zu einem unerlässlichen Hilfsmittel geworden.

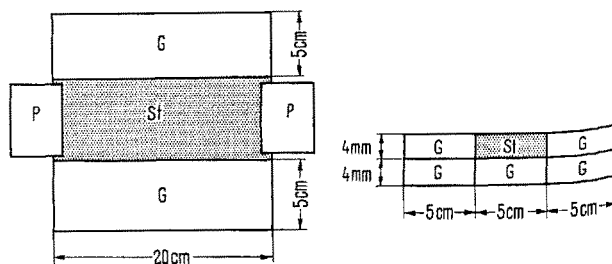
Im folgenden soll eine vereinfachte Modifikation dieser Methode mitgeteilt werden, die darauf beruht, dünne Schichten von Stärke (2–4 mm) auf Glasplatten, die sonst für die Dünnschichtchromatographie benutzt werden, zu verwenden.

**Methodik.** 7 g Stärke<sup>2</sup> werden in einem Erlenmeyerkolben in 50 ml des zu benützenden Puffers aufgeschlämmt, rasch unter Schwenken über einer offenen Flamme erhitzt, bis der Brei die von SMITHIES angegebene Dünnpflüssigkeit erreicht hat. Anschließend wird sofort der Erlenmeyerkolben an das Vakuum angeschlossen und durch rasches Schwenken kurz beim Sieden gehalten.

5 Glasplatten 5 × 20 cm werden so gelegt, dass 3 den Boden bilden und 2 auf den beiden äusseren aufliegen (Figur). Der freie Zwischenraum wird nun mit dem Stärkebrei ausgefüllt und schnell mit einem Glasstab an der Oberfläche glattgestrichen. Man kann selbstverständlich an Stelle der beiden Glasplatten, die die Schichtdicke be-

stimmen, entsprechende Schablonen aus Plastik oder anderem Material verwenden.

Sehr kurz nach dem Aufstreichen des Stärkebais auf die Glasplatte, solange die Masse noch weich ist, wird an den



G Glasplatten 4 mm hoch (5 × 20 cm); St Stärkegel; P Papier zur Herstellung des Kontakts zwischen dem Stärkegel und den Puffern in den Kammern.

<sup>1</sup> O. SMITHIES, Biochem. J. 71, 585 (1959).

<sup>2</sup> Zu beziehen durch SERVA Entwicklungslabor, 69 Heidelberg (Deutschland).