

empfänger unter dem Tierkäfig kann das Signal im Mittelwellenbereich ca. 20 Tage lang empfangen. Die Audiofrequenz (500–2000 Hz) wird linear in Gleichspannung umgewandelt (Vidar 320, Frequency to Voltage Converter) und kann mit einem Schreiber direkt aufgezeichnet oder in digitaler Form auf Lochstreifen registriert werden (Solartron, Compact Data Logger).

Auf Figur 4 ist als Beispiel die durch Amphetamine und Serpasil beeinflusste Körpertemperatur einer Maus der unbeeinflussten Körpertemperatur gegenübergestellt.

### Der durch circadiane Frequenzänderung entstehende Fehler bei der Bestimmung von Phasenverschiebungen

In seiner Arbeit «Response curves in circadian periodicity» beschreibt ASCHOFF<sup>1</sup> sechs Methoden zur Messung circadianer Reaktionskurven. Bei drei dieser Methoden ist, nach der circadianen Regel, mit der Phasenverschiebung ( $\Delta\varphi$ ) eine Frequenzänderung ( $\Delta\tau$ ) verbunden. Bei den übrigen drei ist, nach PITTEENDRIGH<sup>2</sup>, zumindest gelegentlich mit Frequenzänderungen – als «after-effects» – zu rechnen. Bei den bisherigen Methoden zur Messung der Phasenverschiebung wurde die Phasenlage des Reizes stets unbeachtet gelassen und die Punkte, zwischen denen gemessen wurde, mehr oder weniger willkürlich gewählt. Dies führt aber nur dann nicht zu Messfehlern, wenn die Frequenzen vor und nach der Phasenverschiebung gleich sind. Folgende Ausführungen beschäftigen sich mit der Berechnung des durch Frequenzänderungen auftretenden Fehlers und mögen zu einer einheitlicheren Methode bei der Bestimmung von Phasenverschiebungen beitragen. Voraussetzung hierfür ist allerdings die Wahl gleicher Bezugspunkte. Auf die erheblich grösseren Unterschiede, die dadurch entstehen, ob man z.B. Anfang oder Mitte der Aktivitätszeit als Referenzpunkt wählt, hat ASCHOFF<sup>1</sup> bereits hingewiesen.

Es wurden bisher vorwiegend drei Messmethoden zur Bestimmung von  $\Delta\varphi$  angewandt (vgl. Figur 1): 1. Extrapolation von  $\tau_1$  auf  $360^\circ$  und Messung des Abstandes zwischen dieser Geraden und der von  $\tau_2$ , auf Höhe des ersten Phasenbezugspunktes nach Reiz (Punkt B); 2. Extrapolation von  $\tau_2$  um  $360^\circ$  zurück und Messung des Abstandes zwischen dieser Geraden und der von  $\tau_1$  auf Höhe des letzten Phasenbezugspunktes vor Reiz (Punkt A); 3. Extrapolation von  $\tau_1$  und  $\tau_2$  auf je  $180^\circ$  und Messung des Abstandes zwischen beiden Geraden in der Mitte zwischen den Punkten A und B ( $\Delta\varphi_3$  in Figur 1). Überdies wurden Phasenverschiebungen gemessen zwischen extrapolierten Verbindungsgeraden und einzelnen Phasenbezugspunkten, sowie zwischen zwei Referenzpunkten selbst. Man kommt heute jedoch davon ab, solche einzelnen Periodenabweichungen als echte Phasenverschiebungen anzusehen. Der durch  $\Delta\tau$  entstehende Fehler ist ohnehin nur bei den erstgenannten Methoden exakt zu bestimmen und damit auch die Phasenverschiebung selbst.

Methode 1 (vgl. ASCHOFF<sup>1</sup>, Figur 2) impliziert, dass  $\Delta\tau$ , unabhängig von der Phasenlage des Reizes, sich erst  $360^\circ$  nach Punkt A auswirkt (Extrapolation von  $\tau_1$ ). Im Fall 2 wird angenommen,  $\Delta\tau$  wirke sich – wiederum unabhängig von der Phasenlage des Reizes – bereits auf die gesamte

**Summary.** A simple and inexpensive radiotelemetric method for measurement of body temperature of small laboratory animals is described, and an example of a pharmacological application is given.

H. GRAF und A. BORBÉLY

Zahnärztliches Institut und Pharmakologisches Institut  
der Universität Zürich (Schweiz),  
21. Januar 1966.

betreffende Periode aus (Extrapolation von  $\tau_2$ ). In Fall 3 wird als Phasenwinkel der Frequenzänderung willkürlich  $180^\circ$  nach Punkt A gewählt, wodurch der maximale Fehler auf die Hälfte herabgesetzt wird.

Die Ausgangshypothese für die folgenden Überlegungen ist, dass die Frequenzänderung unmittelbar nach Änderung der Bedingungen erfolgt. Dieser naheliegendsten Annahme stehen keine gegenteiligen Beobachtungen entgegen. Das Auftreten von Transienten, das man als Trägheit des Systems bezeichnen könnte, spricht nicht gegen die Annahme einer unmittelbaren Frequenzänderung – nach der Pittendrighschen Zwei-Oszillatoren-Theorie wird sie sogar in vollem Umfang gefordert. Die wirkliche

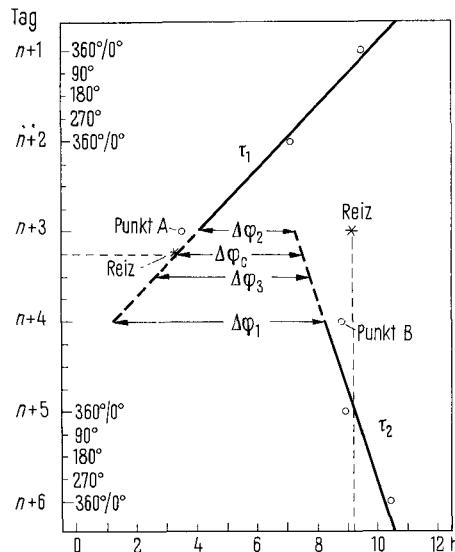


Fig. 1. Schematisches Beispiel einer Phasenverschiebung mit gleichzeitiger Frequenzänderung. Eingezeichnet sind die nach drei verschiedenen Methoden gewonnenen  $\Delta\varphi$ -Werte ( $\Delta\varphi_1$ ,  $\Delta\varphi_2$ ,  $\Delta\varphi_3$ ), sowie der reizphasenabhängige richtige Wert  $\Delta\varphi_k$ . Der Reiz (\*) ist zweimal aufgetragen: Einmal auf die Stundenskala der Abszisse und einmal auf die Gradskala (zwischen den Tagen) der Ordinate bezogen. Der letzte Phasenbezugspunkt vor, bzw. der erste nach Reiz ist mit A, bzw. B bezeichnet.

<sup>1</sup> J. ASCHOFF, Response curves in circadian periodicity. – *Circadian clocks*. (Ed. Aschoff. North-Holland Pub. Co. 1965) p. 95.

<sup>2</sup> C. S. PITTEENDRIGH, Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. 25, 159 (1960).

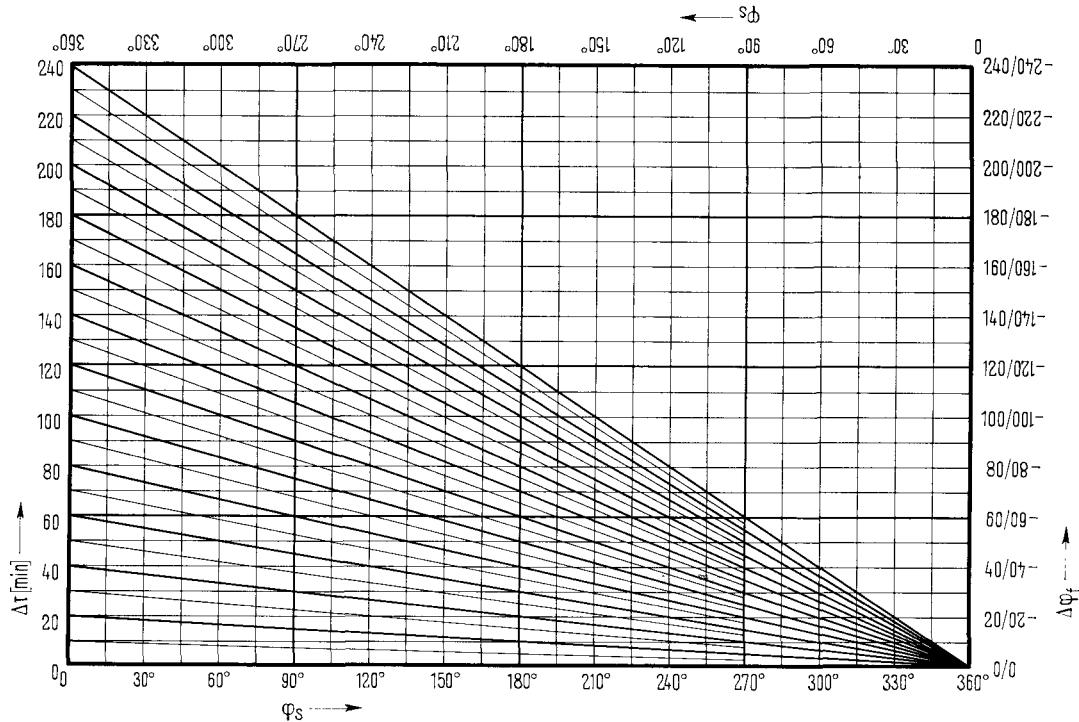


Fig. 2. Diagramm zur Bestimmung des durch  $\Delta\tau$  bedingten Fehlers bei der Berechnung von  $\Delta\varphi$  nach Methode 1 und 2. Zur Bestimmung des Korrekturfaktors für Methode 1 wird die Tafel so gehalten, dass die Linien nach rechts unten ( $360^\circ$ ) konvergieren; für Methode 2 um  $180^\circ$  geschwenkt. Im ersten Fall sind auf der linken Ordinatenkala die  $\Delta\tau$ -Werte, ohne Berücksichtigung des Vorzeichens, aufgetragen (0–240 min). Die Abszissenkala gibt die Phasenlage des Reizes wieder ( $0^\circ$ – $360^\circ$ ). Die rechte Ordinate zeigt den gesuchten Korrekturwert  $\Delta\varphi_f$ , an der sich aus dem Schnittpunkt der abfallenden  $\Delta\tau$ -Geraden mit der Senkrechten des Reizphasen-Wertes ergibt. Der Korrekturwert  $\Delta\varphi_f$  trägt in Fall 1 stets das gleiche Vorzeichen wie  $\Delta\tau$ . – Zur Bestimmung des Korrekturwertes für Methode 2 wird die Tafel gedreht, so dass nun auf der rechten Ordinate die  $\Delta\tau$ - und auf der linken die (negativen)  $\Delta\varphi_f$ -Werte stehen. Der Korrekturfaktor ermittelt sich wiederum aufgrund des Schnittpunktes der nun von rechts unten nach links oben ansteigenden  $\Delta\tau$ -Geraden mit den entsprechenden Senkrechten der Reizphase. Der resultierende  $\Delta\varphi_f$ -Wert trägt in Fall 2 jedoch stets das entgegengesetzte Vorzeichen von  $\Delta\tau$ .

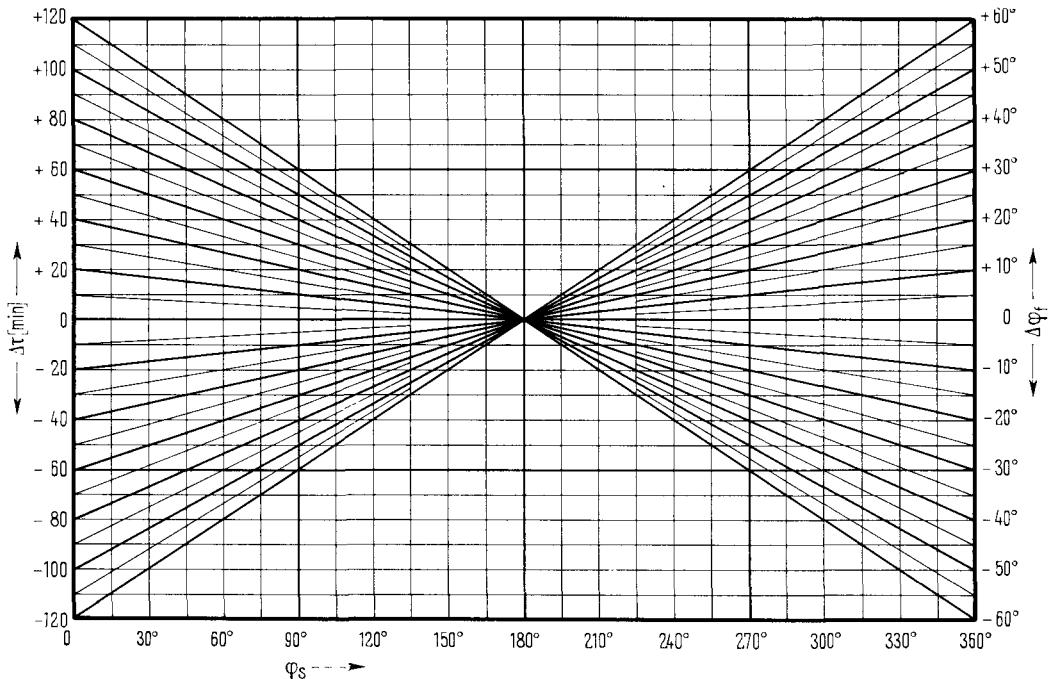


Fig. 3. Diagramm des durch  $\Delta\tau$  bedingten Fehlers bei der Berechnung von  $\Delta\varphi$  nach Methode 3. Auf der linken Ordinate wird der gegebene  $\Delta\tau$ -Wert aufgesucht, die entsprechende fallende oder steigende Gerade bis zum Schnittpunkt mit der Senkrechten des gegebenen Abszissenwertes (Reizphase) verfolgt und der dazugehörige  $\Delta\varphi_f$ -Wert auf der rechten Ordinate abgelesen. Das Vorzeichen dieses Wertes kann bei dieser Darstellung unmittelbar aus der Tafel entnommen werden.

Phasenverschiebung kann selbstverständlich erst nach dem Abklingen von Transienten, im sogenannten «steady state», gemessen werden.

Der durch  $\Delta\tau$  bedingte Fehler bei den genannten Methoden zur Bestimmung von  $\Delta\varphi$  kann in Fall 1 und 2 jeweils maximal den Wert von  $\Delta\tau$  selbst erreichen. In Fall 3 überschreitet der Fehler  $\Delta\tau/2$  nicht. Die effektive Grösse des Fehlers errechnet sich in allen drei Fällen nach der allgemeinen Formel  $-\Delta\tau \cdot \varphi_s$ . Hierbei ist  $\Delta\tau$  die Frequenzänderung in Minuten und  $\varphi_s$  der Phasenwinkel des Stufenreizes, ausgedrückt als Dezimale von  $360^\circ$  ( $x^\circ/360^\circ$ ). Der Ausdruck ist deshalb negativ, weil ein positives  $\Delta\varphi$  einem negativen  $\Delta\tau$  entspricht und umgekehrt. In Fall 1 liegt bei gegebenem  $\Delta\tau$  das Maximum des Fehlers ( $= -\Delta\tau$ ) bei  $0^\circ$ , also bei Reiz in Punkt A; der Fehler ist Null, wenn  $\varphi_s = 360^\circ$  nach Punkt A liegt. Im 2. Fall liegt umgekehrt das Maximum des Fehlers bei  $360^\circ$  und das Minimum bei  $0^\circ$ . Fall 3 weist seinen maximalen Fehler ( $-\Delta\tau/2$ ) mit umgekehrtem Vorzeichen bei  $0^\circ$  und  $360^\circ$  auf; der Fehler ist Null bei  $\varphi_s = 180^\circ$ . Für die drei Beispiele bisher üblicher  $\Delta\varphi$ -Bestimmungen gelten entsprechend folgende Formeln zur Eliminierung des  $\Delta\tau$ -bedingten Fehlers:

- 1)  $\Delta\varphi_c = \Delta\varphi_m + \Delta\tau (1 - \varphi_s)$
- 2)  $\Delta\varphi_c = \Delta\varphi_m - \Delta\tau \varphi_s$
- 3)  $\Delta\varphi_c = \Delta\varphi_m + \Delta\tau (0,5 - \varphi_s)$ .

$\Delta\varphi_c$  = das durch Eliminierung des Fehlers korrigierte  $\Delta\varphi$

$\Delta\varphi_m$  = das nach der jeweiligen Methode gemessene  $\Delta\varphi$ .

Beispiel (vgl. Figur 1):

$$\left. \begin{array}{l} \tau_1 = 25 \text{ h} \\ \tau_2 = 23 \text{ h} \end{array} \right\} \Delta\tau = -120'$$

$\varphi_s = 5 \text{ h}$  ( $90^\circ = 90^\circ/360^\circ = 0,25$ ) nach A

$$\begin{aligned} \Delta\varphi_{m1} &= -90' \\ \Delta\varphi_{m2} &= -210' \\ \Delta\varphi_{m3} &= -150' \end{aligned}$$

$$\left. \begin{array}{l} 1) \Delta\varphi_c = -90' - 120' (1 - 0,25) \\ \quad = -90' - 90' = -180' \\ 2) \Delta\varphi_c = -210' + 120' \cdot 0,25 \\ \quad = -210' + 30' = -180' \\ 3) \Delta\varphi_c = -150' - 120' (0,5 - 0,25) \\ \quad = -150' - 30' = -180' \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{Fehler} = -90' \\ \text{Fehler} = +30' \\ \text{Fehler} = -30' \end{array}$$

Eine wesentliche Vereinfachung der  $\Delta\varphi$ -Korrektur lässt sich mit Hilfe graphischer Darstellungen erreichen. Grösse und Vorzeichen des Fehlers können unmittelbar aus dem Diagramm entnommen werden; dieser Wert ist – entsprechend dem doppelt negativen Vorzeichen – zu dem gemessenen Wert  $\Delta\varphi_m$  zu addieren. Näheres ist den entsprechenden Legenden zu entnehmen.

*Summary.* Phase shifts ( $\Delta\varphi$ ) are commonly measured without considering the cue's phase position ( $\varphi_s$ ). The normally adopted methods for measuring phase shifts give errorless results only when there is no change in period length ( $\Delta\tau$ ). Very often, however, both phase shifts and changes in period length occur together. The magnitude of the error is then a function of the magnitude of  $\Delta\tau$  and the distance between the points of measurement and the cue's phase position. (The basic hypothesis is that  $\Delta\tau$  is effected immediately after the cue.) Methods for calculating and eliminating the error are given.

M. LOHMANN<sup>3</sup>

Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie,  
Seewiesen und Erling-Andechs (Deutschland),  
29. November 1965.

<sup>3</sup> Gegenwärtige Adresse: Princeton University, Department of Biology, Princeton (N. Jersey, USA).

## STUDIORUM PROGRESSUS

### Radiation Inactivation of Purified Lysine Vasopressin

A number of protein and polypeptide hormones have been studied in our laboratory by means of the technique of radiation inactivation of biological and immunological activities. These have included human chorionic gonadotropin<sup>1</sup>, human pituitary gonadotropins<sup>2</sup>, bovine thyrotropin<sup>3</sup>, adrenocorticotropin<sup>4</sup>, and melanocyte stimulating hormone<sup>4</sup>. In order to further understand the effects of ionizing radiation on such hormones, we have undertaken studies on a polypeptide hormone which is available in completely pure form and whose amino acid sequence and structure are well known – lysine vasopressin. This report presents the data obtained during the course of these studies.

*Methods.* Detailed discussions of preparation of samples for radiation, radiation and methods of data analysis have

been previously published<sup>1,3,4</sup>. Highly purified lysine vasopressin (LVP) was prepared as previously described<sup>5,6</sup>. In one series of experiments, 1 mg of LVP was placed on each planchet or in each bottle. In a second series of experiments, 0.5 mg was placed in each container. Samples were radiated in either an argon atmo-

<sup>1</sup> M. NYDICK, R. J. BERRY, and W. D. ODELL, *J. clin. Endocrinol. Metab.* 24, 1049 (1964).

<sup>2</sup> W. D. ODELL, R. W. SWAIN, and M. NYDICK, *J. clin. Endocrinol. Metab.* 24, 1266 (1964).

<sup>3</sup> W. D. ODELL and W. E. PAUL, *J. biol. Chem.* 240, 2043 (1965).

<sup>4</sup> W. E. PAUL, A. J. KASTIN, and W. D. ODELL, *Biochim. biophys. Acta* 100, 263 (1965).

<sup>5</sup> A. V. SCHALLY and R. GUILLEMIN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 112, 1014 (1963).

<sup>6</sup> A. V. SCHALLY, R. N. ANDERSEN, H. S. LIPSCOMB, J. M. LONG, and R. GUILLEMIN, *Nature* 188, 1192 (1960).