

^{14}C (I) wurde in Anlehnung an⁷ nach der Methode der gemischten Anhydride synthetisiert. Smp. 283° (Lit. 283°⁸).

L-Valyl-L-prolin-U- ^{14}C -lactam (II): In Anlehnung an⁹ liess sich der Z-L-valin- ρ -nitrophenylester gewinnen. Smp. 63° (Lit. 63°¹⁰). Dieser Ester wurde mit L-Prolin-U- ^{14}C -äthylesterhydrochlorid zu II umgesetzt. Smp. 188° (Lit. 187°¹¹). III in analoger Weise wie II. Smp. 160° (Lit. 159°¹¹); 160°¹².

Die radioaktiven Vorstufen wurden an 5 Tage alte Kulturen appliziert. Die Trennung der Alkaloidgemische erfolgte durch präparative Schichtchromatographie, Versuch A). 1. Kieselgel PF₂₅₄ Merck, Chloroform: Äthan (9:1). 2. Aluminiumoxid PF₂₅₄ Merck, Chloroform: Äther: Wasser (3:1:1)¹³. Versuche B) und C). 1. Kieselgel PF₂₅₄ Merck, Toluol:Aceton:Ameisensäure (85%ig) (5:4:1). 2. Kieselgel PF₂₅₄, Toluol:Aceton: Ameisensäure (85%ig) (5,5:4:0,5). Gearbeitet wurde bei einer Raumtemperatur von 15°C. 3. Alox-Trennung wie bei A). Diese Technik erwies sich als erforderlich, um eine eindeutige Abtrennung der Lactame von den Ergotoxinen zu erreichen.

Zur Bestimmung der Radioaktivitätsverteilung wurde mit inaktivem Material verdünnt, umkristallisiert und die Ergotoxine einem chemischen Abbau^{3,14} unterworfen. Nach der KOH-Spaltung wurde die Lysergsäure durch PC isoliert, das Dimethylpyruvat als Dinitrophenylhydrazone-Derivat und die Aminosäuren als die entsprechenden DNP-Derivate erfasst. Die Radioaktivitätsbestimmungen erfolgten im Tricarb-Flüssigkeitsszintillationsspektrometer Modell 3365.

Summary. L-Valyl-L-leucine-U- ^{14}C , L-valyl-L-proline-U- ^{14}C -lactam and L-leucyl-L-proline-U- ^{14}C -lactam were

administered to submerged cultures of an ergotoxin-mixture-producing strain of *Claviceps purpurea*. The added dipeptides were split by the fungus into the corresponding amino acids prior to incorporation. Apparently dipeptides are no immediate precursors for the peptide side-chain of ergotoxinealkaloids.

D. GRÖGER und S. JOHNE

Institut für Biochemie der Pflanzen des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin
DDR-401 Halle/S., Weinberg,
6. August 1971

⁷ K. LÜBKE und E. SCHRÖDER, Justus Liebigs Annl. Chem. 665, 205 (1963).

⁸ J. P. BURNETT und F. HAUROWITZ, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 331, 67 (1963).

⁹ M. BODANSKY und V. DU VIGNEAUD, J. Am. chem. Soc. 81, 5688 (1959).

¹⁰ B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER und R. SCHWYZER, Helv. chim. Acta 40, 373 (1957).

¹¹ A. BUTENANDT, P. KARLSON und W. ZILLIG, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 288, 279 (1951).

¹² E. FISCHER und G. REIF, Justus Liebigs Annl. Chem. 363, 126 (1908).

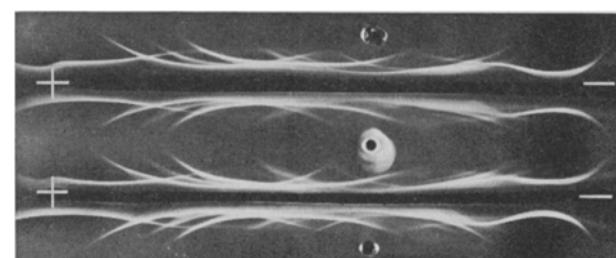
¹³ J. L. McLAUGHLIN, J. E. GOYAN und A. G. PAUL, J. pharm. Sci. 53, 306 (1964).

¹⁴ G. BASMADJIAN, Thesis, Purdue University, Lafayette, USA (1970).

Über die Funktion der Eiweißdrüse von *Helix pomatia*

Zur Funktion der sogenannten Eiweißdrüse von Schnecken, die dem Geschlechtsapparat der Tiere angehören, ist bisher wenig bekannt¹. Daher war die Entdeckung eines blutgruppenaktiven Anti-A-Agglutinins^{2,3} in dieser Drüse bei der Weinbergschnecke *Helix pomatia* von grossem Interesse. Wie weitere Untersuchungen zeigten, reagiert dieses antikörperähnliche Prinzip nicht nur mit dem α -N-Acetyl-D-Galaktosamin von Blutzellen³, sondern auch mit dem gleichen Hexosamin an Bakterien sowie mit der β -N-Acetyl-D-Glucosamin-haltigen Struktur der bakteriellen Teichonsäure⁴. Als dritte Spezifität konnten wir kürzlich Anti-Dextran-Aktivität feststellen⁵. Aufgrund dieser Tatsachen nehmen wir eine Schutzfunktion dieser antibakteriell wirkenden Substanzen für das im Geschlechtsapparat gebildete Ei an und nannten diese auch in den Drüsen und Eiern anderer Schneckenarten vorkommenden Agglutinine Protektine⁶. Unsere Hypothese, dass die Eiweißdrüse als Schutzstoffproduzent für das Ei eine wichtige Aufgabe erfüllt, wurde weiter gestützt durch das Auffinden polyvalenter Proteaseinhibitoren in der Eiweißdrüse und in den Eiern verschiedener Schnecken⁷.

In dieser Mitteilung soll nun mit Hilfe der Immun-elektrophorese der Beweis erbracht werden, dass die Inhaltsstoffe der Eiweißdrüse mit denen des Eis identisch sind (Figur). Es ist ersichtlich, dass es sich in der Drüse und in dem Ei um die gleichen Verbindungen handelt. Dabei ist bemerkenswert, dass Antiseren gegen den Extrakt aus der Eiweißdrüse von *Helix pomatia* auch mit dem Extrakt aus den Eiweißdrüsen und Eiern anderer



Immunelektrophorese (Special Agar-Noble, DIFCO). Oberes und unteres Loch: Rohextrakt aus Eiern von *Helix pomatia*. Mittleres Loch: Rohextrakt aus der Eiweißdrüse von *Helix pomatia*. Gräben: Antiserum vom Kaninchen gegen den Rohextrakt aus der Eiweißdrüse von *Helix pomatia*.

¹ R. KILIAS, *Weinbergschnecken* (VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1960).

² O. PROKOP, A. RACKWITZ und D. SCHLESINGER: J. forens. Med. 12, 108 (1965).

³ Z. KIM, G. UHLENBRUCK, O. PROKOP und D. SCHLESINGER, Z. Immun. Forsch. exp. Ther. 130, 190 (1966).

⁴ F. HAMMARSTRÖM und E. A. KABAT, Biochemistry 8, 2696 (1969).

⁵ I. ISHIYAMA und G. UHLENBRUCK: Z. ImmunForsch. exp. Ther., im Druck.

⁶ O. PROKOP, G. UHLENBRUCK und W. KÖHLER, Dt. Gesundheitswes. 23, 318 (1968).

⁷ G. UHLENBRUCK, I. SPRENGER und I. ISHIYAMA: Z. klin. Chem., 9, 361 (1971).

Schnecken (z. B. *Cepaea hortensis*) kreuzreagieren. Solche Ergebnisse weisen darauf hin, dass sich im Vorkommen von Agglutininen und Proteinaseinhibitoren in diesen Organen ein allgemeinbiologisches Prinzip der Schutzwirkung manifestiert. Über weitere wichtige Inhaltsstoffe dieser Drüse und der entsprechenden Eier (Enzyme) soll an anderer Stelle berichtet werden. Bemerkenswerterweise kommen diese Schutzprinzipien in der Hämolymphe dieser Tiere nicht vor.

Summary. A strong immunological crossreactivity between the extracts of the albumin gland of snails (*Helix pomatia*) and the content of snail eggs is described, suggesting that the former supplies the eggs with protective substances (agglutinins, protease-inhibitors).

G. UHLENBRUCK, I. SPRENGER und
I. ISHIYAMA

Medizinische Universitätsklinik,
Abteilung für Immunologie,
Kerpener Strasse 15, D-5 Köln-Lindenthal 41 (Deutschland),
19. August 1971.

PRO EXPERIMENTIS

A Rapid Microtechnique for Incorporation Studies in Cell Cultures

In this report we wish to describe a new technique that greatly facilitates study of the uptake of radioactively-labelled precursors by cells cultured as monolayers in vitro. The technique, entailing the use of multi-well plastic trays, has we point out, many advantages over other methods.

The tissue culture trays (Linbro, Model FB-48-TC, with 6 × 8 wells) are either purchased sterile or are sterilized with 70% ethanol (10 min) followed by UV irradiation for 100 min. The cells under study at the desired concentrations are then pipetted in their medium into the wells (cell suspensions are 200 µl/well).

To ensure that the bottoms of all wells remain horizontal, we inserted the trays against a multi-hole PVC plate designed for the purpose (Figures 1 and 2). A second multi-well tray served as a cover to prevent evaporation, and was held in place by a second multi-hole PVC plate. (The assembly is shown in Figures 1 and 2.) Steel clamps or an iron weight (800 g) were used to hold the two PVC plates firmly together. The assembly, compact and easy

to handle, was incubated at 37°C in a CO₂ incubator (Heraeus), 95% air, 5% CO₂.

Before starting an experiment, the cells were allowed to acclimatize for 16–24 h. The assembly enabled a microscopic study of the cells at any time. All manipulations during an experiment (medium change, addition of drugs, addition of precursors) are made under a hood to prevent bacterial contamination. To remove the culture medium, a special pipette is used (Figure 3); for applying new medium, an Eppendorf-micropipette proved useful. To avoid disturbing the monolayer during change of the medium, it is important; 1. to rest the trays on a rack at a tilted (30°) position (Figure 1) and 2. to direct the opening of the special pipette towards the wall of the trough.

To stop incorporation of radioactive precursors, the medium is aspirated and the single wells are filled with 100 µl icecold 10% TCA. The whole trays are then placed in a 5% TCA bath (chromatography tanks, 20 × 10 × 20 cm, refrigerator) and the extraction is repeated twice. To dry the trays we used either 80% ethanol or 5% acetic

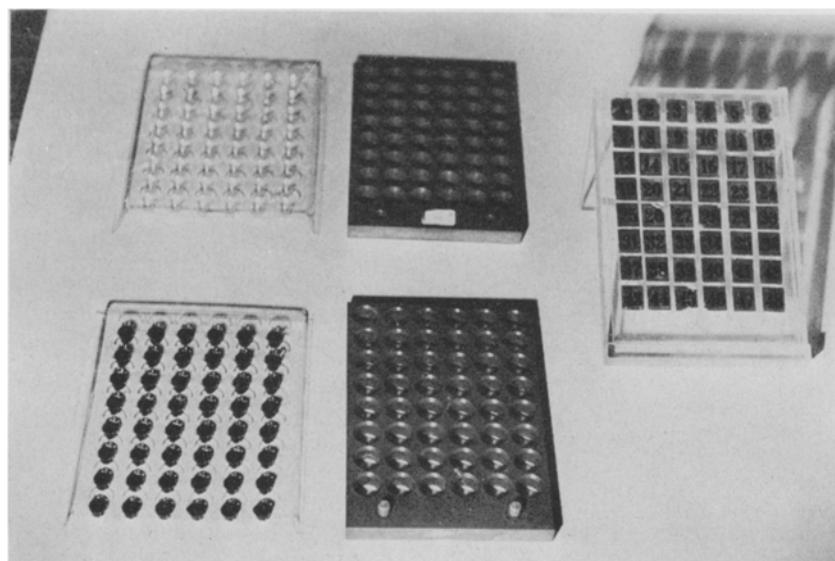


Fig. 1. The whole set consisting of 2 tissue culture trays and 2 PVC plates, together with an oblique rack to handle the trays.