

arbeiteten quantitativen Verhältnisse eine verstärkte oder verminderte Betaninausscheidung durch allergische Erscheinungen verursacht sein kann, läßt sich noch nicht sagen. Genetische Faktoren scheinen keine Rolle zu spielen. Ebenso wenig ist für die Betaninausscheidung ein stark saurer Urin Voraussetzung; dagegen kann in einem stärker alkalischen Urin Betanin zerstört werden. Eine Fermentadaptation als Ursache für einen schnellen Abbau resorbierten Betanins, wodurch das Erscheinungs-

bild des „Nichtausscheiders“ entstehen könnte, scheint, wie aus unseren Langzeitversuchen hervorgeht, keine Rolle zu spielen. Im Serum konnten wir nach Rote Rüben-Aufnahme und Sicherung der Resorption von Betanin durch Nachweis von Betanin im Harn Betanin nicht nachweisen, damit lag die Konzentration sicher unter 300 $\mu\text{g}\%$. Frühere Arbeitsergebnisse erscheinen unsicher, da ein Hämoglobingehalt des Serums Betanin vortäuschen kann.

Literatur

1. WILCOX, M. E., H. WYLER und A. S. DREIDING, Zur Konstitution des Randenfarbstoffes Betanin. 8. Mitteilung: Stereochemie von Betanidin und Isobetanidin. *Helv. Chim. Acta* 48, 1134 (1965). — 2. SCHUDEL, G., Über die Anthocyane von *Beta vulgaris* L. (var. *rapacea* Koch forma *rubra* L.) und *Raphanus sativus* L. (var. *Radicula* Pers.). Dissertation Zürich (1918). — 3. AINLEY, A. D. und R. ROBINSON, Nitrogenous anthocyanins. Part III. Preliminary experiments with betanidin. *J. Chem. Soc. (London)* 1937, 446. — 4. PUCHER, G. W., L. C. CURTIS und H. B. VICKERY, The red pigment of the root of the beet (*Beta vulgaris*). I. The preparation of betanin. *J. Biol. Chem.* 123, 61 (1938). — 5. PUCHER, G. W., L. C. CURTIS und H. B. VICKERY, The red pigment of the root of the beet (*Beta vulgaris*). II. A method to determine betanin. *J. Biol. Chem.* 123, 71 (1938). — 6. REZNIK, H., Die Pigmente der Centrospermen als systematisches Element II. — Untersuchungen über das ionophoretische Verhalten. *Planta* 49, 406 (1957). — 7. WYLER, H., G. VINCENTI, M. MERCIER, G. SASSU und A. S. DREIDING, Zur Konstitution des Randenfarbstoffes Betanin, 2. (vorläufige) Mitteilung. *Helv. Chim. Acta* 42, 1696 (1959). — 8. SCHMIDT, O. TH., P. BECHER und M. HÜBNER, Zur Kenntnis der Farbstoffe der Rote Rübe, III. *Chem. Bericht* 93, 1296 (1960). — 9. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M. und K. MENDNER, Die Betaninurie: Nachweis und gerichtsmedizinische Bedeutung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 56, 287 (1965). — 10. AIELLO, M.-TH., Zur Genetik der Betaninurie. Dissertation Erlangen (1965). — 11. HESS, A. F. und V. C. MYERS, Carotinemias: A new clinical picture. *J. Amer. Med. Assoc.* 73, 1743 (1919). — 12. RUH, H. O. und J. A. GARVIN, Anthocyaninemia and anthocyaninuria. *Ohio State Med. J.* 20, 763 (1924). — 13. CATHALA, J., P. MARTROU und L. GRAS, Sur le passage du pigment de la betterave rouge dans les urines. *Bull. Soc. Pédiat. de Paris* 37, 88 (1939). — 14. MATHESON, A., Anthocyaninuria. *Am. J. Dis. Child.* 51, 226 (1936). — 15. HALLÉ, J. und L. GIRARD, Passage du pigment de la betterave rouge dans l'urine de l'enfant. *Bull. Soc. Pédiat. de Paris* 36, 266 (1938). — 16. JACOBSEN, E., Rød urin efter spising af rødbeder. *Ugeskrift Laeg. (Dän.)* 104, 136 (1942). — 17. Allison, A. C. und K. G. McWHIRTER, Two unifactorial characters for which man is polymorphic. *Nature* 178, 748 (1956). — 18. SALDANHA, P. H., L. E. MAGALHAES und W. A. HORTA, Race differences in the ability to excrete beetroot pigment (Betanin). *Nature (Lond.)* 187, 806 (1960). — 19. SALDANHA, P. H., O. FROTA-PESSOA und L. I. S. PEIXOTO, Genetik der Betanin-Ausscheidung bei holländischen Einwanderern in Brasilien. In: *Second International Conference of Human Genetics, Roma, D.* 221 (1961). — 20. JERVIS, J. J., Acidosis and hepatic disorder. *Brit. Med. J.* 1, 1408 (1914). — 21. POOLE, M. W., Anthocyaninuria. *Amer. J. Dis. Child.* 33, 784 (1927). — 22. LAUR, A., Erythurie nach Rotrübengeuß. Klinisch-experimenteller Beitrag zum Problem der Darmresorption. *Dtsch. Arch. Klin. Med.* 196, 466 (1949). — 23. ZINDLER, G. A. und G. C. COLOVOS, Anthocyaninuria and beet allergy. *Ann. Allergy* 8, 603 (1950). — 24. LUKE, R. G. und W. C. WATSON, Anaphylaxis with beeturia. *Brit. Med. J.* 1963, 980. — 25. WATSON, W. C., R. G. LUKE und J. A. INALL, Beeturia, Its incidence and a clue to its mechanism. *Brit. Med. J.* 1963, 971. — 26. MENDNER, K., Die Betaninurie, Nachweis und gerichtsmedizinische Bedeutung. Dissertation Erlangen (1965). — 27. AIELLO, M. V., Untersuchungen zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von freiem Betanin im Serum. Dissertation Erlangen (1964).

Priv.-Doz. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
852 Erlangen, Universitätsstr. 22

Ein optischer Test zur Bestimmung der Kreatin-Phosphokinase

Von M. FERAUDI und K. HARM

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Hamburg-Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. J. Kühnau)

(Eingegangen am 4. Februar 1967)

Es wird die Zusammensetzung eines optischen Tests zur Bestimmung der CPK (2. 7. 3. 2 ATP: Kreatin-Phosphotransferase) nach dem Reaktionsschema von M. L. TANZER und CH. GILVARG angegeben. Durch die Ermittlung optimaler Reaktionsbedingungen hat der Test eine wesentlich höhere Empfindlichkeit als die bisher bekannten Verfahren. Die gemessene Aktivität ist der Enzymkonzentration in der Küvette proportional, und zwar bei Einsatz von kristalliner CPK im Bereich von 0,06 bis 0,004 $\mu\text{Mol}/(\text{Min.} \cdot \text{ml})$ und bei Einsatz von menschlichem Serum im Bereich von 0,005 bis 0,0001 $\mu\text{Mol}/(\text{Min.} \cdot \text{ml})$.

A procedure is described for the coupled photometric measurement of CPK (2. 7. 3. 2 ATP: creatine phosphotransferase) according to the reaction mechanism of M. L. TANZER and CH. GILVARG. By establishing optimal reaction conditions the sensitivity of the method was markedly increased. The activity level measured is proportional to the concentration of enzyme in the cuvettes for crystallized CPK in the range 0,06—0,004 $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{ml})$ and for human serum in the range 0,005—0,0001 $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{ml})$.

Es gibt verschiedene Verfahren (1, 2, 3, 4, 5), um die Aktivität der CPK (2.7.3.2-ATP: Kreatin-Phospho-

transferase) im optischen Test zu messen. Jedoch fehlen Angaben darüber, wie die Zusammensetzung der ein-

Tab. 1

Bestimmung der Adenosin-5'-triphosphat:Kreatin-Phosphotransferase. Meßtemperatur 38,0—40,0°. Alle Reagenzien sind in Pufferlösung gelöst. Es werden 0,050 ml des unten angegebenen Testansatzes in eine Küvette der Schichtdicke 1,000 cm und der lichten Breite 2 mm einpipettiert

Reagenzien	Konzentration im Test	Herstellung der Ausgangslösung	Vol. der Ausgangslösung in ml für	
			0,050 ml Testansatz	1,00 ml Testansatz
MgSO ₄ · 7 H ₂ O Mol.-Gew. 246,48 Merck 5886	4,0 mM	1,232 g/25,0 ml (200 mM)	0,0050	0,100
Adenosin-5'-triphosphat C ₁₀ H ₁₄ O ₁₃ N ₅ P ₃ Na ₃ · 3 H ₂ O Mol.-Gew. 605,2 Boehringer ATP 15028	4,0 mM	0,3026 g/2,50 ml (200 mM)	0,0050	0,100
Phosphoenolpyruvat C ₃ H ₄ O ₆ PK Mol.-Gew. 207,1 Boehringer PEP-K 15179	1,0 mM	0,0207 g/2,00 ml (50 mM)	0,0050	0,100
Reduziertes Nicotinamidadenin-dinucleotid C ₂₁ H ₂₇ O ₁₄ N ₇ P ₂ Na ₃ Mol.-Gew. 709,4 Boehringer NADH 15142	0,45 mM	0,0532 g/5,00 ml (15 mM)	0,0075	0,150
1.1.1.27 L-Lactat: NAD-Oxidoreductase Boehringer LDH-M-R 15371	19 µMol/(Min. · ml)		V _{LDH}	20 V _{LDH}
1.7.1.40 ATP: Pyruvat-Phosphotransferase Boehringer PK 15744	4,6 µMol/(Min. · ml)		V _{PK}	20 V _{PK}
Pufferlösung pH = 9,0: Tris(hydroxymethyl)aminomethan Mol.-Gew. 121,14 Merck 8382 HCl 1 M Merck 9057		6,057 g „Tris“ in 90 ml Aqua tridest. lösen, 7,50 ml 1 M HCl hinzufügen und ad 100,0 ml mit Aqua tridest. auffüllen. („Tris“ 500 mM, HCl 75,0 mM)	V _P	20 V _P

Wenn die Meßtemperatur erreicht ist, werden 0,075 ml der zu testenden Lösung hinzugefügt und die Reaktion mit 0,125 ml Kreatinlösung (Merck 5205; 150 µM: 0,0583 g mit Pufferlösung ad 5,00 ml) gestartet, nachdem vorher mittels eines PVC-Fadens gut durchgemischt wurde. Da Kreatin sehr schwer löslich ist, empfiehlt es sich, die Kristalle gut zu zermörern. Bei einer Temperatur von 1—4° sind die Ausgangslösungen eine Woche lang haltbar. Die Kreatinlösung wird kurz vor der Bestimmung hergestellt. Da die Enzym-Präparate oft nicht die vom Hersteller angegebene Aktivität aufweisen, ist es erforderlich, jeweils vor Benutzung einer neuen Suspension deren Aktivität [µMol/(Min. · ml)] festzustellen und danach die Menge der Hilfsenzyme im Testansatz zu berechnen. Die Testansätze für die Messung der Aktivität der Hilfsenzyme sind in den folgenden Tabellen angegeben.

Tab. 2

Bestimmung der L-Lactat:NAD-Oxidoreductase. Meßtemperatur (48,0 ± 0,2)°. Alle Reagenzien sind in Aqua tridest. gelöst. Es werden 1,93 ml des unten angegebenen Testansatzes in eine Küvette der Schichtdicke 1,000 cm einpipettiert

Reagenzien	Konzentration im Test	Herstellung der Ausgangslösung	Vol. der Ausgangslösung in ml für 1,93 ml Testansatz	
Äthylendiamintetraessigsäure, Dinatriumsalz C ₁₀ H ₁₆ N ₄ Na ₂ O ₈ · 2 H ₂ O Mol.-Gew. 372,25 Merck 8418	5,0 mM	0,0372 g/2,00 ml (50,0 mM)		0,200
Nicotinamid-adenin-dinucleotid, red. C ₂₁ H ₂₇ O ₁₄ N ₇ P ₂ Na ₃ Mol.-Gew. 709,4 Boehringer NADH 15142	0,225 mM	0,0213 g/2,00 ml (15,0 mM)		0,030 1,50
Aqua tridest. Pufferlösung pH = 7,3: Triäthanolamin-HCl C ₆ H ₁₅ O ₃ N · HCl Mol.-Gew. 185,7 Boehringer TRA 15325 NaOH 2 M Merck 9136		9,285 g TRA in 90 ml Aqua tridest. lösen, 3,86 ml 2 M NaOH hin- zufügen und ad 100,0 ml mit Aqua tridest. auffüllen. („TRA“ 500 mM, NaOH 77,2 mM)		0,200

Wenn die Meßtemperatur erreicht ist, werden 0,050 ml der zu testenden Lösung (2 · 10⁻³ Verdünnung der Enzym-Suspension, die unmittelbar vor der Messung hergestellt werden muß) hinzugefügt und die Reaktion mit 0,020 ml Pyruvat-Lösung (Merck 6619; 480 mM: 0,2641 g mit Aqua tridest. ad 5,00 ml) gestartet.

Tab. 3

Bestimmung der ATP:Pyruvat-Phosphotransferase. Meßtemperatur (38,0 ± 0,2)°. Alle Reagenzien sind in Pufferlösung gelöst. Es werden 1,75 ml des unten angegebenen Testansatzes in eine Küvette der Schichtdicke 1,000 cm einpipettiert

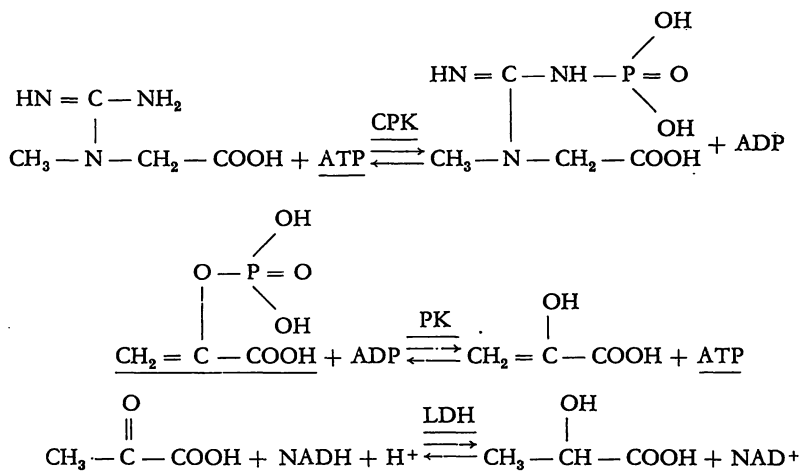
Reagenzien	Konzentration im Test	Herstellung der Ausgangslösung	Vol. der Ausgangslösung in ml für 1,75 ml Ansatz	
Adenosin-5'-diphosphat C ₁₀ H ₁₄ O ₁₀ N ₅ P ₂ Na ₃ Mol.-Gew. 493,2 Boehringer ADP 15014	4,5 mM	0,2219 g/3,00 ml (150 mM)		0,060
MgSO ₄ · 7 H ₂ O Mol.-Gew. 246,48 Merck 5886	5,0 mM	0,2465 g/10,00 ml (100 mM)		0,100
Nicotinamid-adenin-dinucleotid, red. C ₂₁ H ₂₇ O ₁₄ N ₇ P ₂ Na ₃ Mol.-Gew. 709,4 Boehringer NADH 15142	0,30 mM	0,0213 g/2,00 ml (15,0 mM)		0,040
1.1.1.27 L-Lactat:NAD-Oxidoreductase Boehringer LDH-M-R 15371	38 µMol/(Min. · ml)			V _{LDH}
Pufferlösung pH = 7,6 Triäthanolamin-HCl C ₆ H ₁₅ O ₃ N · HCl Mol.-Gew. 185,7 Boehringer TRA 15325 NaOH 2 M, Merck 9136		9,285 g TRA in 90 ml Aqua tridest. lösen, 6,52 ml 2 M NaOH hinzufügen und ad 100,0 ml mit Aqua tridest. auffüllen. („TRA“ 500 mM, NaOH 134 mM)		V _P

Wenn die Meßtemperatur erreicht ist, werden 0,050 ml der zu testenden Lösung (10⁻³ Verdünnung der Enzym-Suspension, die unmittelbar vor der Messung hergestellt werden muß) hinzugefügt und die Reaktion mit 0,200 ml Phosphoenolpyruvat-Lösung (Boehringer PEP-K 15179; 20 mM: 0,0207 g mit Pufferlösung ad 5,00 ml) gestartet.

zelen Testansätze ermittelt wurde. Wenn man die Aktivität einer CPK-Lösung mit verschiedenen Verfahren bestimmt, erhält man unterschiedliche Werte (Tabelle 4 und (4)).

Im „Report of the commission on enzymes of the International Union of Biochemistry“ (6), wird als Enzymeinheit diejenige Menge definiert, die ein Mikromol Substrat in der Minute unter definierten experimentellen Bedingungen (standard conditions) umsetzt. Dieser Report empfiehlt eine Meßtemperatur von 30° und begründet diese Empfehlung damit, daß es ein großer Vorteil wäre, eine Standardtemperatur zu haben, um so einen Vergleich zwischen den Aktivitäten der verschiedenen Enzyme zu ermöglichen. Die übrigen Bedingungen müßten, wenn möglich, optimal sein, insbesondere pH und Substratkonzentration. Der Report begründet nicht, warum nicht auch für die Temperatur optimale Werte ermittelt werden müßten, und warum eine gleiche Temperatur bei der Messung der verschiedenen Enzymaktivitäten erforderlich ist, um einen Vergleich zwischen diesen Aktivitäten zu ermöglichen.

Unserem Meßverfahren liegen die folgenden Reaktionen zugrunde (7):



Die Auslösung der Reaktion erfolgt durch Zugabe von α -Methylguanidinessigsäure (Kreatin) zu einer Lösung, die alle im obigen Reaktionsschema unterstrichenen Substanzen enthält. Nach einer gewissen Zeit erreicht die Umsatzgeschwindigkeit von NADH diejenige von Kreatin.

Unter optimalen Bedingungen erfolgt die Aktivitätsbestimmung bei 38,0–40,0° durch photometrische Messung der Extinktionsänderung bei 366 nm. Wir benutzten das Photometer „Eppendorf“ sowie Küvetten der Firma Netheler & Hinz, Hamburg. Ein thermostatisierter Küvettenhalter hielt die Temperatur auf $(38,0 \pm 0,1)^\circ$. Das Photometer war mit einer Registrierung der Firma Philips verbunden, die eine graphische Darstellung der Extinktion als Funktion der Zeit aufzeichnet.

Bei Benutzung einer Küvette der Schichtdicke 1,000 cm und Einsatz kristalliner CPK für die Messung nimmt die Geschwindigkeit der Extinktionsänderung bis zu einem ΔE von 0,20 noch zu, um dann während eines ΔE von 0,50 konstant zu bleiben. Danach tritt wieder eine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit ein.

Unter Zugrundelegung des linearen Teiles der Zeit-Extinktions-Kurve wird die Enzymaktivität in der

Küvette nach der folgenden Gleichung berechnet (Gesetz von LAMBERT und BEER):

$$\frac{dc}{dt} = \frac{dE}{dt \cdot e \cdot s}$$

Die so gemessene Aktivität ist der eingesetzten Menge kristalliner CPK über einen weiten Bereich proportional.

Wenn die spezifische Aktivität des Enzym-Kristallisats in der Küvette im Bereich von 0,06 bis 0,004 $\frac{\mu\text{Mol}}{\text{Min} \cdot \text{ml}}$ liegt, dann ist die gemessene Aktivität der Enzym-Konzentration proportional. Wegen der schnell eintretenden Inaktivierung reiner Enzym-Lösungen bei hoher Verdünnung ist es nicht möglich, bei geringeren spezifischen Aktivitäten genaue Ergebnisse zu ermitteln.

Bei Einsatz von menschlichem Serum besteht Proportionalität zwischen Enzym-Konzentration in der Küvette und gemessener Aktivität im Bereich von 0,005 bis 0,0001 $\frac{\mu\text{Mol}}{\text{Min} \cdot \text{ml}}$.

Beim Vergleich unseres Testansatzes mit dem von ROTTHAUWE und Mitarbeiter (3) angegebenen und mit dem der Fa. Boehringer ergaben sich folgende Unterschiede: Der erstgenannte wird nach einem ΔE von 0,05 linear und bleibt es über ein ΔE von 0,20. Bei dem Boehringer-Rest bleibt die Reaktionsgeschwindigkeit nach einem ΔE von 0,10 während eines ΔE von 0,15 konstant. Obwohl bei unserem Test der lineare Ablauf erst nach einer Extinktionsänderung von 0,20 erreicht wird, beginnt die Reaktion wegen ihrer höheren Geschwindigkeit erheblich früher linear zu laufen als bei dem der Fa. Boehringer und nur wenig später als bei ROTTHAUWE.

Der große Linearitätsbereich ist besonders wichtig bei der Verwendung von Mikroküvetten, da man bei diesen mit erhöhter Verstärkung arbeiten muß, und deshalb durch die Instabilität des Gerätes bedingte Abweichungen vom linearen Verlauf auftreten können.

Tab. 4
Vergleich unseres Testes mit verschiedenen anderen

	Geschwindigkeit der Tests auf die Geschwindigkeit unseres Testes bei $(38,0 \pm 0,1)^\circ$ bezogen	Mit den Testen gemessene Aktivität auf die mit unserem Test gemessene bezogen
Unser Test $(38,0 \pm 0,1)^\circ$ 0,15 ml Serum, 0,50 ml Gesamtvolumen	1,0	1,0
Unser Test $(25,0 \pm 0,1)^\circ$ 0,15 ml Serum, 0,50 ml Gesamtvolumen	0,49	0,49
Boehringer-Test $(38,0 \pm 0,1)^\circ$ 1,00 ml Serum, 3,50 ml Gesamtvolumen	0,40	0,42
Boehringer-Test $(25,0 \pm 0,1)^\circ$ 1,00 ml Serum, 3,50 ml Gesamtvolumen	0,17	0,18
Rotthauwe-Test $(37,0 \pm 0,1)^\circ$ 0,50 ml Serum, 2,00 ml Gesamtvolumen	0,30	0,36

Da bei Einsatz von biologischem Untersuchungsmaterial das NADH des Testansatzes auch ohne Zugabe von Kreatin umgesetzt wird, ist es erforderlich, eine Aktivitätsbestimmung ohne Kreatin (Vorlauf) durchzuführen und die dabei gemessene Aktivität von der mit Kreatin gemessenen (Hauptlauf) abzuziehen. Da die Linearität des Vorlaufs oft erst jenseits eines gewissen ΔE erreicht

wird, muß der Testansatz eine ausreichende Menge von NADH enthalten. Dieses ΔE hängt von der Art des Untersuchungsmaterials ab und ist daher von Fall zu Fall verschieden.

Die Auswirkung der verschiedenen Reaktionsparameter auf die gemessene CPK-Aktivität wird in den Abbildungen 1 bis 8 dargestellt.

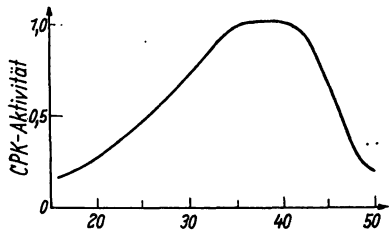


Abb. 1

CPK-Aktivität, bezogen auf die Aktivität bei 38°, als Funktion der Temperatur. Die Messungen erfolgten mit dem in Tabelle 1 angegebenen Verfahren

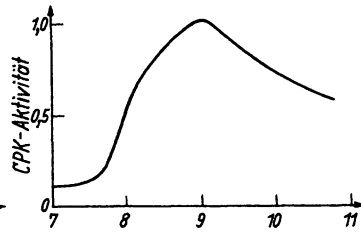


Abb. 2

CPK-Aktivität, bezogen auf die Aktivität bei pH = 9,0 als Funktion des pH. Die Messungen erfolgten mit dem in Tabelle 1 angegebenen Verfahren. Das pH der Pufferlösung wurde durch Zugabe von HCl auf die verschiedenen Werte eingestellt

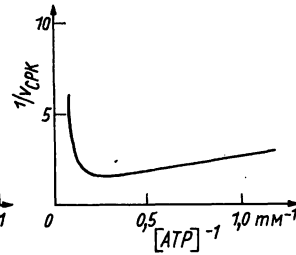


Abb. 3

Bestimmung der optimalen ATP-Konzentration im Testansatz. Die Konzentrationen der anderen Reaktionsteilnehmer sind in Tabelle 1 angegeben. Dieses gilt auch für die folgenden Abbildungen

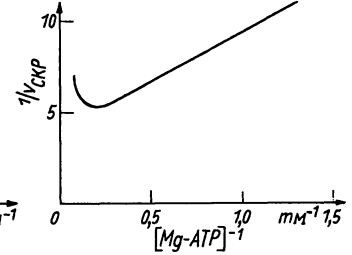


Abb. 4

Bestimmung der optimalen Mg-ATP Konzentration im Testansatz

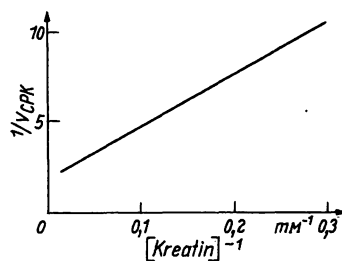


Abb. 5

Bestimmung der optimalen Kreatin-Konzentration im Testansatz. Wie man sieht, ergibt eine weitere Steigerung der Kreatin-Konzentration nur eine geringe Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit. Wegen der schlechten Löslichkeit des Kreatins ist eine Konzentration von 75 mM praktisch die höchst erreichbare

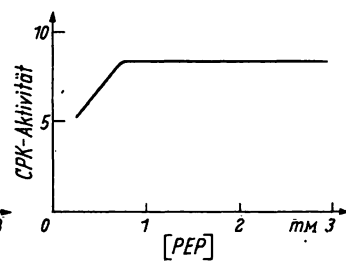


Abb. 6

Bestimmung der optimalen PEP-Konzentration im Testansatz

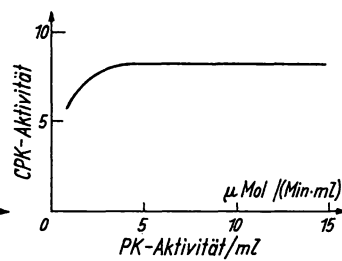


Abb. 7

Bestimmung der optimalen PK-Aktivität im Testansatz

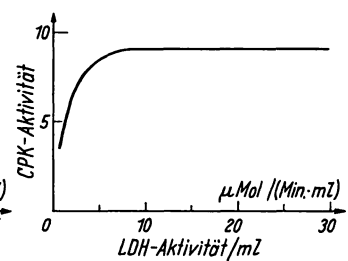


Abb. 8

Bestimmung der optimalen LDH-Aktivität im Testansatz

Literatur

1. CPK-Test, Biochemica, Boehringer, Mannheim (1966).
2. COLOMBO, J. P., R. RICHTERICH und E. ROSSI, *Klin. Wschr.* 40, 37 (1962).
3. ROTTHAUWE, H. W., S. ZURUKZOGLU-SKLAVOUNOU und H. HAMMANN, *Klin. Wschr.* 39, 1269 (1961).
4. ROTTHAUWE, H. W. und M. CERQUEIRO-RODRIGUEZ, *Clin. chim. Acta* (Amsterdam) 10, 134 (1964).
5. KLEINE, T. O., *Klin. Wschr.* 42, 504 (1965).
6. FLORKIN, M. und E. H. STORZ (Hrsg.), *Comprehensive Biochemistry*, Bd. 13, Elsevier Publ., Amsterdam-London-New York (1964).
7. TANZER, M. L. und CH. GILVARG, *J. biol. Chemistry* 234, 3201 (1959).

Dr. M. Feraudi
2 Hamburg 20, Martinistr. 52