

der letzteren entsprechenden 1000000 nichtmitotischen Kerne. Die Hautbiopsien für die zytologischen, licht-, polarisations- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden 24, 48 bzw. 72 Std nach dem Versuchsbeginn entnommen. Die Versuchstechnik ist veröffentlicht worden^{1a-c), 2)}.

Ergebnisse: 1. Die allgemeinen Befunde stimmten mit unseren früheren diesbezüglichen Ergebnissen vollkommen überein; 2. gutartige Epidermishyperplasie und unbehandelte Normalepidermis waren hochgradig empfindlich für die Wirkung der Substanz und respondierten in analoger Weise. Dagegen kam es bei kanzeröser Hyperplasie zu keiner bzw. nur einer äußerst schlichten Reaktion, und zwar unabhängig von der Behandlungsfrequenz; 3. bei dem gutartigen Zustand und normalem Ausgangsgewebe lag die Anzahl anomaler Mitosen pro 500 Mitosen/Maus sowie pro 10000 nichtmitotischen Kernen hochsignifikant ($P < 0,001$) höher als bei den Kontrollserien — bei kanzerösem Zustand wurden keine Veränderungen beobachtet; 4. in gutartiger Hyperplasie und in Normalepidermis war die Anzahl der alkaloidbedingten monströsen Tochterzellen pro 500 Mitosen/Maus sowie pro 10000 nichtmitotischen Kernen hochsignifikant ($P < 0,001$) höher als in kanzeröser Hyperplasie; die letztgenannte blieb tatsächlich dabei; 5. bei gutartigem Zustand und normalem Ausgangsgewebe war die Prozentzahl pro 500 Mitosen/Maus sowie die Anzahl pro 10000 nichtmitotischen Kernen der Prophasen hochsignifikant ($P < 0,001$) niedriger als in Kontrollserien. Bei kanzerösem Zustand waren dagegen keine Veränderungen ersichtlich; 6. in gutartiger Hyperplasie und in Normalepidermis war sowohl die Prozentzahl pro 500 Mitosen/Maus als die Anzahl pro 10000 nichtmitotischen Kernen der Metaphasen hochsignifikant ($P < 0,001$) höher als in Kontrollserien — in bösartiger Hyperplasie wiederum keine Veränderungen.

Zusammenfassend: die gutartige Epidermishyperplasie und Normalepidermis einerseits, und die kanzeröse Epidermishyperplasie andererseits, respondierten auf die Wirkung des onkolytischen Alkaloids Velbe® grundverschieden und in entgegengesetzter Weise. Die Natur der alkaloidbedingten Mitosestörung der nichtmalignen Zellen erinnerte an das sog. Präprophasenintoxikation-Syndrom; gleichzeitig waren die malignen Zellen nahezu indolent bzw. stumm.

Gestützt durch Forschungstipendien von SIGRID JUSÉLIUS' Stiftelse, Helsinki 1961—1965.

Pathologisches Institut (Dienstältester: Prof. Dr. KAI SETÄLÄ) und dessen Radiologisches Laboratorium, Universität, Helsinki, Finnland

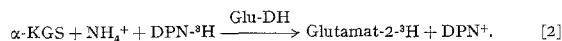
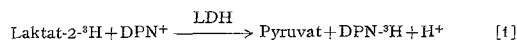
KAI SETÄLÄ

Eingegangen am 14. August 1965

¹⁾ SETÄLÄ, K.: a) Progr. Exptl. Tumor Res. 5, 1 (1964); — b) Naturwissenschaften 51, 245 (1964); — c) Acta Radiol., Suppl. 237 (1965). — ²⁾ SETÄLÄ, K. et al.: Strahlentherapie 121, 97, 122, 565 (1963); 123, 99, 125, 109 (1964).

Zur Aminosäure-Markierung in Tumorzellen nach intrazellulärer DPN-³H-Herstellung

1964 berichteten wir¹⁾ über die „Identifizierung von markierten Aminosäuren in Tumorzellen nach intrazellulärer DPN-³H-Herstellung aus Laktat-2-³H“. Wir waren der Ansicht, daß die Reaktion zur Markierung der Glutaminsäure in Ascites-Tumorzellen folgendermaßen formuliert werden könnte:



Wir wiederholten die Versuche mit neuen Lieferungen von Na-Laktat-2-³H²⁾, konnten jetzt aber keine tritiummarkierten Aminosäuren finden, auch bei Wiederholungen nicht.

Versuche mit Laktat-2-¹⁴C dagegen ergaben — wie die ersten Versuche mit Laktat-2-³H — markierte Glutaminsäure und Alanin. Mit Laktat-2-¹⁴C läuft also die Reaktion [1] ab, und daher wird auch aus Laktat-2-³H intrazellulär DPN-³H gebildet, da Laktat nur nach intermediärer Bildung von Pyruvat in den Stoffwechsel eingeschleust werden kann.

Weitere Versuche mit Homogenaten von Ascites-Tumorzellen zeigten, daß auch bei Zusatz von NH₄⁺-Ionen [1/1000 molar] und Ketoglutarat [1/1000 molar] bei Zugabe von Laktat-2-³H keine tritiummarkierte Glutaminsäure [oder Alanin] entstehen.

Somit wird in Ascites-Tumorzellen Glutamat nicht durch reduktive Aminierung von Ketoglutarat mittels DPNH gebildet. Da auch die Zugabe von Glukose-1-³H [zur intrazellulären TPN-³H-Herstellung] keinen Hinweis für einen bevorzugten Tritium-Einbau in Glutaminsäure liefert³⁾, müssen

wir annehmen, daß Glutamat in Ascites-Tumorzellen bevorzugt durch Transaminierung entsteht und kaum durch reduktive Aminierung.

Das Auftreten von tritierterem Alanin und Glutaminsäure bei den früheren Versuchen¹⁾ führen wir auf die Verunreinigung des damals gelieferten Laktats-2-³H mit Laktat-3-³H zurück. Inzwischen wurden in Zusammenarbeit mit der Lieferfirma die Reinheitskriterien für tritiertes Laktat verbessert.

Physiologisch-Chemisches Institut der Freien Universität Berlin, Berlin 33

M. WENZEL und I. JOEL

Eingegangen am 12. Juni 1965

¹⁾ WENZEL, M.: Naturwissenschaften 51, 441 (1964). — ²⁾ Na-Laktat-2-³H: New Engl. Nuclear Corp., dort nähere Information erhältlich. — ³⁾ WENZEL, M., I. JOEL u. W. OELKERS: Vortrag auf dem 10. Symposium über Fortschritte bei der Anwendung von Radioisotopen, Zürich, März 1965.

Addendum: Synthesis of DL-Sodium Lactate-2-³H

New England Nuclear Corp. prepares DL-sodium lactate-2-³H by reduction of ethyl pyruvate with sodium borohydride-³H. The crude reaction product is saponified and the sodium salt converted to free lactic acid by passage over an amberlite IR-120 resin. The lactic acid is purified by sublimation and reconverted to the sodium salt by careful titration with sodium hydroxide.

M. WENZEL and I. JOEL reported, in a private communication, that thin layer chromatographic analysis on silica gel G from n-butanol:acetic acid:water (4:1:1) was a more sensitive analysis for sodium lactate-2-³H than others previously performed.

Upon employing this criterion of purity, two radioactive components were observed in the sodium lactate-2-³H. After considerable experimentation, the NENC laboratories demonstrated that the components were cleanly separated by paper chromatography from n-butanol:ethanol:3N ammonium hydroxide (4:1:5) and purification was effected from this solvent system.

In summary, more sensitive criteria for the radiochemical purity of sodium lactate-2-³H have evolved and a purer product synthesized to meet these criteria.

New England Nuclear Corp., 575 Albany Street, Boston, Massachusetts

THOMAS F. SULLIVAN

Occurrence of the Perfect Stage of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. on the Leaves of *Dieffenbachia amoena* Hort. ex Gentil

In February 1965, the authors observed a serious leaf spot disease of *Dieffenbachia amoena* growing in "Khushroo Bagh", Allahabad. The spots were mostly marginal, but occasionally the central part of the lamina was also infected. The spots were irregular in size and shape. Their colour was smoke gray¹⁾ with a marginal strip of olive color¹⁾. At an early stage the infected areas remain attached but they drop off after 10—15 days. The marginal strip, however, remains attached and helps in the further spread of infection.

Isolations from the diseased lamina consistently gave a richly sporulating culture of *Colletotrichum gloeosporioides*. Single spore culture developed perithecia of *Glomerella cingulata* (Stonem) Spauld and Schrenk. Detailed study was undertaken to find out the relationship between the perfect and conidial stages. For this purpose the healthy leaves of the host as well as Asthana & Hawker's medium "A" were inoculated with the conidia obtained from monoconidial cultures. They invariably developed the perithecia in 15—20 days. Development of the setae over the walls of the acervuli was not very consistent, but older acervuli produced them. It was also observed that the inoculations made with the ascospores developed the fruiting bodies of both the ascigerous and the conidial types.

This is the first record of *C. gloeosporioides* and its perfect stage on the leaves of this host.

Senior author is thankful to State C.S.I.R. (U.P.), for the financial help.

Botany Department, Allahabad University, Allahabad, India

BIHARI LAL and R.N. TANDON

Eingegangen am 23. Juli 1965

¹⁾ RIDGWAY, R.R.: Color Standard and Color Nomenclature. Washington 1912.