

Die polytope Markierung von D,L-Glutamin mit Tritium (eingegangen am 22. Oktober 1965)

96 mg D,L-Glutamin wurden in der von uns früher entwickelten Apparatur ⁽¹⁾ mit gasförmigem Tritium in Kontakt gebracht (ca. 3 C ³H₂, nicht trägerfrei; 350 Torr; 33 d). Zur Entfernung des labil gebundenen Tritiums lösten wir das Bestrahlungsprodukt zweimal in Wasser und lyophilisierten jedesmal die Lösung. Es verblieb ein Rückstand von 78 mg mit einer Aktivität von 20 mC/mMol. Das Radiopapierchromatogramm (Abb. 1a) zeigte vier Aktivitäts-Maxima und drei mit Ninhydrin färbbare Substanzen.

Das Substanzgemisch wurde nun in drei Anteilen an dem Kationenaustauscher Dowex 50 W × 8 (200-400 Maschen; H⁺-Form) mit 0,2 molarem Ammoniumformiat-Puffer (pH 3) ⁽²⁾ chromatographiert (Säulen-Länge 22 cm;

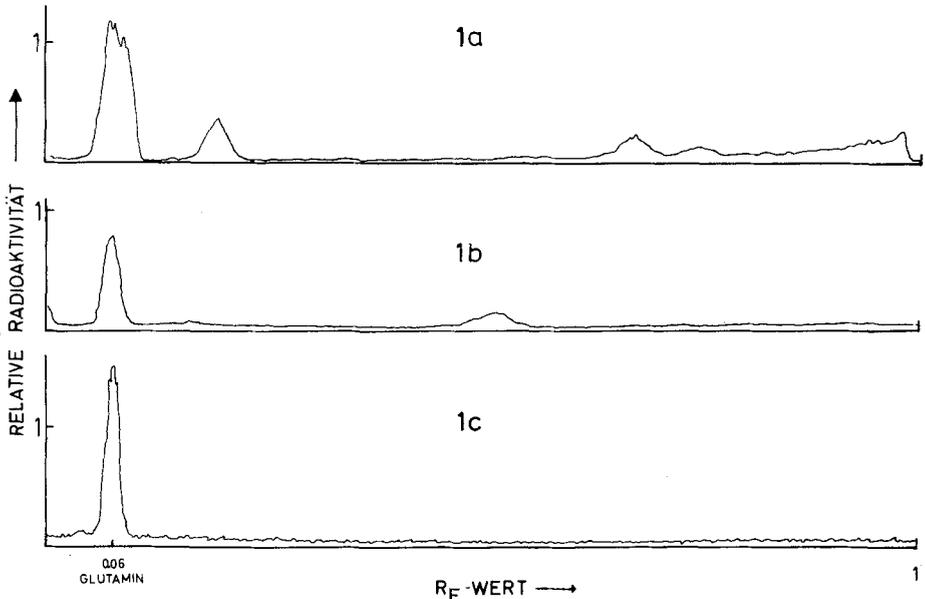


ABB. 1a, b, c. — Verteilung der Radioaktivität auf Papierchromatogrammen von tritiierten D,L-Glutamin-Präparationen verschiedener Reinigungsstufen :
 a) Rohprodukt nach Entfernung des labil gebundenen Tritiums,
 b) Produkt nach Austauscher-Chromatographie an Dowex 50 W,
 c) Gereinigtes ³H-D,L-Glutamin.

100 g Austauscher), die ^3H -Glutamin enthaltenden Fraktionen vereinigt und das Puffersalz bei ca. 50° absublimiert. Diese Austauscher-Chromatographie wurde noch einmal wiederholt und danach ein Produkt mit zwei Aktivitäts-Maxima erhalten (Abb. 1b).

Den Rückstand (69 mg; Aktivität 14,2 mC/mMol) chromatographierten wir an derselben Säule mit 0,1 molarem Natriumcitrat-Puffer (pH 3,4). Zwei Aktivitäts-Maxima konnten im Radiopapierchromatogramm nachgewiesen werden.

Es schloss sich nun eine Verteilungs-Chromatographie auf Cellulosepulver an [MR-L 100 (Methanol-gereinigt) der Fa. Mikrotechnik, Miltenberg/Main]. Als Laufmittel in der 30 cm langen Säule fand n-Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 5) (obere Phase) Verwendung. Dieser Reinigungsschritt war relativ verlustreich; das Radiopapierchromatogramm zeigte wieder 2 Aktivitäts-Maxima*.

Anschließend wiederholten wir die Säulenchromatographie an Dowex 50 W mit Ammoniumformiat, um auch restliches Citrat abzutrennen, und konnten eine Fraktion gewinnen, die 15,1 mg reines ^3H -D,L-Glutamin (15,5 %) einer Aktivität von 9,2 mC/mMol (63 $\mu\text{C}/\text{mg}$) enthielt (Abb. 1c).

Die analytische Kontrolle der bei der Reinigung des tritiierten Glutamins anfallenden Fraktionen wurde papierchromatographisch durchgeführt. [Papier 2043 b Mgl, Schleicher & Schüll/Dassel; Laufmittel : n-Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 5) — obere Phase].

H.-L. SCHMIDT

G. WERNER

Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Arbeitsgruppe Neurochemie,
Frankfurt/Main, Deutschordenstrasse 46, Deutschland.

LITERATURVERZEICHNIS

1. SCHMIDT, H.-L. und WERNER, G. — *Liebigs Ann. Chem.*, **656** : 149 (1962).
2. TURBA, F. in HOPPE-SEYLER/THIERFELDER — *Handb. der physiolog. u. patholog.-chemischen Analyse* Bd. III/2, S. 1659 und 1800, Verlag Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1955).

* Die Substanz mit dem R_F -Wert 0,55 war sehr wahrscheinlich Glutaminsäure, die sich durch Hydrolyse während der Aufarbeitung gebildet hatte.