

Dithizon umgesetzt und das gebildete Bleidithizonat durch Filtrieren und Chloroform-Extraktion entfernt²². Die HS werden mit Eisessig/Diäthyläther als Ammoniumhumate gefällt. Glührückstand (850 °C) < 1%.

(2) *Papierelektrophorese* erfolgt auf Papierstreifen (4 · 30 cm) Filtrak FN 13 (VEB Spezialpapierfabrik Niederschlag/Erzgebirge) in einem handelsüblichen Gerät (VEB Carl Zeiss Jena). Puffer: Veronal-Azetat nach GRASSMANN und HANNIG²³ (pH 8,6); Ionenstärke 0,1; Laufzeit 3 h, Klemmspannung 200 V, Stromstärke 0,5 mA/cm Streifenbreite.

(3) *Autoradiographie*: 1 ml der HS-Probeflösung wird mit 2 μCi $^{59}\text{FeCl}_3$ (Zentralinstitut für Kernforschung Rossendorf über Dresden) versetzt. 0,01 ml der radioaktiven HS-Lösung wird strichförmig auf der Startlinie

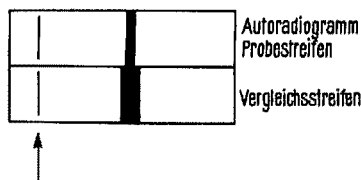


Fig. 3. Autoradiographischer Nachweis von HS. Vergleichsstreifen: 100 μg Moorwasser-HS + 0,02 μCi ^{59}Fe . Probestreifen: 0,01 ml einer 100:1 konzentrierten Trinkwasserprobe.

des Elektrophoresestreifens aufgetragen. Nach beendeter Trennung wird der Streifen luftgetrocknet und anschließend in Kontakt mit ORWO-Röntgenfilm (VEB Filmfabrik ORWO Wolfen) gebracht, Expositionszeit 10 Tage. Als Vergleich dient ein gleich behandelter Elektrophoresestreifen, auf den 0,01 ml einer Lösung von 10 mg HS und 2 μCi $^{59}\text{Fe}/\text{ml}$ aufgetragen werden. Der HS-Nachweis ist positiv, wenn das Autoradiogramm des Probestreifens eine Schwärzungsbande in gleicher Position zeigt wie der Vergleichsstreifen (Figur 3). Zu jedem Nachweis sollten wenigstens 2 Probe- und 2 Vergleichsstreifen ausgewertet werden.

Summary. In paper-electrophoresis metallic ions migrate to the anode together with the humic acids. In combination with autoradiography (using ^{59}Fe) 1 μg of humic acids may be detected.

R. KLÖCKING, H. KLEIST und D. MÜCKE

Institut für Physiologische Chemie der Universität Rostock (DDR), 24. Januar 1967.

²² D. MÜCKE und R. KLÖCKING, *Verfahren zur Gewinnung wasserlöslicher Huminsäuren*, DDR-Patent No. 49 324.

²³ W. GRASSMANN und K. HANNIG, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 290, 1 (1952).

Isolation of a 0.5S γ_2 -Globulin from Normal Human Plasma

Low molecular weight proteins with mobilities of the γ -globulins were detected in plasma several years ago¹ and were found to be concentrated in COHN fraction VI². Recently, we isolated and characterized 2 members of this class of proteins, the 3S γ_1 - and 2S γ_2 -globulins^{3,4}. In the present communication we wish to report on the detection of a 0.5S protein whose electrophoretic mobility corresponds to that of the γ_2 -globulins.

Pooled normal human plasma was fractionated according to COHN method 6⁵. The proteins present in the final supernatant solution, designated as COHN fraction VI, were concentrated by precipitation and then resolved on a DEAE-cellulose column at pH 5.5 yielding 2 gross fractions. One of these fractions contained the mentioned 3S γ_1 - and 2S γ_2 -globulins and certain basic constituents^{3,4}. The other fraction contained the remaining proteins which were eluted subsequently and, after concentration, were further fractionated by chromatography on a DEAE-cellulose column at pH 5.4.

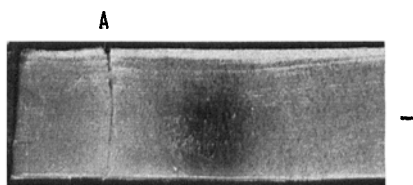
The protein subfraction present in the resulting effluent appeared homogeneous on paper electrophoresis at pH

8.6 and migrated with a mobility corresponding to that of the γ_2 -globulins. The sedimentation constant of this preparation was 0.5S. Further purification was achieved by filtration through a Sephadex G-75 column affording 1 major and 2 minor peaks. On starch gel electrophoresis at pH 8.6 (Figure) the major fraction revealed a single band⁶

Zusammenfassung. Eine homogene Fraktion wurde aus normalem Humanplasma isoliert. Die Sedimentationskonstante dieser Globulinfraktion erwies sich als 0.5S und ihre elektrophoretische Beweglichkeit entsprach derjenigen der γ_2 -Globuline.

R. B. NIMBERG, L. LARSEN and K. SCHMID

Department of Biochemistry, Boston University School of Medicine, Boston University Medical Center and Massachusetts Department of Public Health, Institute of Laboratories, Boston (Massachusetts 02118, USA), 20th March 1967.



Starch gel electrophoresis of the 0.5S γ_2 -globulin in pH 8.6 borate buffer. The protein migrated toward the cathode (-). The slot of application is indicated by (A).

¹ A. LUNDBLAD and I. BERGGÅRD, *Biochim. biophys. Acta* 57, 129 (1962).

² S. TAKAHASHI and K. SCHMID, *Biochim. biophys. Acta* 82, 627 (1964).

³ T. IKENAKA, D. GITLIN and K. SCHMID, *J. biol. Chem.* 240, 2868 (1965).

⁴ T. IWASAKI and K. SCHMID, *J. biol. Chem.*, in press.

⁵ E. J. COHN, L. E. STRONG, W. L. HUGHES JR., D. J. MULFORD JR., J. N. ASHWORTH, M. MELIN and H. L. TAYLOR, *J. Am. chem. Soc.* 68, 459 (1946).

⁶ This investigation was supported by grants from the National Institute of General Medical Sciences, U.S. Public Health Service (Nos. GM-10374 and 1-K3-GM-32,160).