

Enzymatische Vitamin-B₁₂-Bestimmung

Reinhard HERRMANN und Otto MÜLLER

Institut für Organische Chemie, Biochemie und Isotopenforschung der Universität Stuttgart

(Der Schriftleitung zugegangen am 17. September/5. November 1976)

Zusammenfassung: Es wird ein Verfahren beschrieben, nach dem es möglich ist, die sehr empfindliche Bestimmungsmethode für 5'-Desoxy-5'-adenosylcobalamin durch die Propandiol-Dehydratase-Reaktion auf die Bestimmung von Cyano- und Hydroxocobalamin zu erweitern.

Hierzu werden die Cobalamine in der Vitamin-B₁₂-Coenzym-Synthetase-Reaktion adenosyliert und das gebildete 5'-Desoxy-5'-adenosylcobalamin durch die Propandiol-Dehydratase-Reaktion bestimmt. Der dabei entstehende Aldehyd wird mit Hilfe der Alkohol-Dehydrogenase-Reaktion erfaßt.

An Enzymic Assay for the Determination of Vitamin B₁₂

Summary: A procedure which extends the very sensitive propanediol-dehydratase reaction for 5'-deoxy-5'-adenosylcobalamine determination to cyanocobalamine and hydroxocobalamine is described. In this procedure, the cobalamines are adenosylated by vitamin B₁₂ coenzyme synthetase

and the resulting 5'-deoxy-5'-adenosylcobalamine can be determined by the propanediol-dehydratase reaction. Aldehyde, the product of the latter, can be registered by the alcohol dehydrogenase reaction.

Key words: Vitamin B₁₂, propanediol-dehydratase reaction, cobalamines, adenosylation.

Geringe Konzentrationen 5'-Desoxy-5'-adenosylcobalamin (Vitamin-B₁₂-Coenzym, Ado-Cobalamin) können mit Hilfe der Propandiol-Dehydratase-Reaktion bestimmt werden^[1,2]. Dabei wird 1,2-Propandiol unter Einwirkung des Enzyms Propandiol-Dehydratase und Ado-Cobalamin als Coenzym zu nicht hydratisiertem Propionaldehyd

umgesetzt^[3], der colorimetrisch als 2,4-Dinitrophenylhydrazon bestimmt werden kann.

Diese Bestimmungsmethode kann auf die Erfassung von Cyano- bzw. Hydroxocobalamin ab einer Konzentration von 0.1 µg/ml ausgedehnt werden, wenn man diese zuvor in die Coenzymform über-

Enzyme:

Alkohol-Dehydrogenase, Alkohol:NAD⁺-Oxidoreduktase (EC 1.1.1.1);
Lipoamid-Reduktase (NADH) (Diaphorase), NADH:Lipoamid-Oxidoreduktase (EC 1.6.4.3);
Propandiol-Dehydratase, 1,2-Propandiol-Hydro-Lyase (EC 4.2.1.28);
Vitamin-B₁₂-Coenzym-Synthetase, ATP:Cobamid-5'-Desoxyadenosyltransferase (nicht registriert).