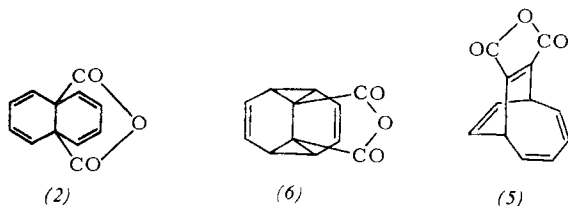


255m μ ($\epsilon=9100$) und Schulter bei 310m μ ($\epsilon=1400$) in CH₃OH] zeigt im NMR-Spektrum ein Dublett bei $\tau = 2,47$ (2 Protonen), ein symmetrisches Multiplett, zentriert bei $\tau = 4,22$ (4 Protonen), und ein komplexes Multiplett bei $\tau = 6,35$ (2 Protonen). Da die drei Absorptionen vier Paaren jeweils gleicher Protonen zuzuschreiben sind, muß ein symmetrisches Molekül vorliegen. Die beobachtete Multiplizität der Signale macht für B die Bicyclo[4.2.2]decatetraen-Struktur (5) wahrscheinlich, doch steht der endgültige Konstitutionsbeweis noch aus.



(5) könnte durch eine photochemisch induzierte Isomerisierung (4 + 4 Cycloaddition^[5]) von (2) zum tetracyclischen System (6) und durch dessen Umlagerung im Sinne einer Retrosynthese entstehen^[6].

Eingegangen am 9. Mai 1966 [Z 222]

[1] E. Vogel, W. Meckel u. W. Grimme, Angew. Chem. 76, 786 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 643 (1964).

[2] Modell NK 3/12, Quarzlampen-Gesellschaft m.b.H., Hanau.

[3] G. Schröder, J. F. M. Oth u. R. Merényi, unveröffentlicht.

[4] J. F. M. Oth, R. Merényi, G. Engel u. G. Schröder, Tetrahedron Letters, im Druck.

[5] Vgl. hierzu die von R. Hoffmann u. R. B. Woodward quantenmechanisch abgeleiteten Auswahlregeln für synchron verlaufende Cycloadditionen: J. Amer. chem. Soc. 87, 2046 (1965).

[6] Nach Abschluß dieser Untersuchung erhielten wir davon Kenntnis, daß im Arbeitskreis von W. von E. Doering cis-9,10-Dihydronaphthalin photochemisch zum Bullvalen isomerisiert werden konnte.

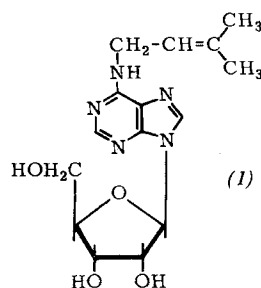
Struktur eines ungewöhnlichen Nucleosids aus serin-spezifischer Transfer-Ribonucleinsäure^[1]

Von Prof. Dr. K. Biemann und Dr. S. Tsunakawa
Massachusetts Institute of Technology, Cambridge,
Massachusetts (USA)

Dr. J. Sonnenbichler
Max-Planck-Institut für Biochemie, München

Dr. H. Feldmann, Dr. D. Dütting und Prof. Dr. H. G. Zachau
Institut für Genetik der Universität Köln

Unmittelbar benachbart zum wahrscheinlichen Anticodon der serin-spezifischen tRNS^[2], deren Primärstruktur kürzlich aufgeklärt werden konnte^[3], wurde ein als iPA bezeichnetes seltenes Nucleosid gefunden. Es hat in fünf Lösungsmittelsystemen R_f-Werte von 0,8–0,9 und besitzt ein adenosin-ähnliches UV-Spektrum ($\lambda_{\max} = 265$ m μ oder 269 m μ bei pH = 2 bzw. pH = 7–12)^[4]. Bei der Behandlung mit Säure (1 N HCl, 30 min, 100 °C) entstehen zwei Umwandlungs-



produkte A und B mit R_f = 0,57 bzw. 0,73 in n-Butanol/H₂O/konz. NH₄OH (86:14:5). Im folgenden werden die Experimente näher beschrieben, die die Struktur von iPA als N(6)-(γ,γ-Dimethylallyl)-adenosin (1) beweisen.

Ein hochaufgelöstes Massenspektrum^[5] ergab die Bruttoformel C₁₅H₂₁N₅O₄. Die Häufigkeit von Ionen, die fünf Stickstoffatome aber keinen Sauerstoff enthalten, insbesondere C₅H₅N₅ und C₁₀H₁₃N₅, deutete auf ein substituiertes Adeninpentosid. Die Anwesenheit von stickstoff-freien Ionen, vor allem C₅H₉O₄, zeigte, daß sich alle Sauerstoffatome im Kohlenhydrat-Teil befinden. iPA mußte also ein Adenosinderivat sein, das im Basenteil mit fünf Kohlenstoffatomen substituiert ist. Das Auftreten von Ionen des Typs C_nH_mN⁺ bis zu (C₅H₉NH)⁺ spricht für einen C₅-Alkenyl- oder Cyclopentyl-Substituenten an der Aminogruppe N(6), der nach der Ionisierung als Ganzes eliminiert werden kann. Zwischen beiden Möglichkeiten konnte auf Grund der Bruchstücke unterschieden werden, die sich vom C₁₀H₁₃N₅-Ion (das dem unter Elektronenbeschuß gebildeten Basenfragment entspricht^[6]) ableiten.

Die geringe Intensität der C₈H₈ oder ⁹N₅-Ionen deutet darauf hin, daß die Abspaltung von zwei Kohlenstoffatomen (als C₂H₅ oder C₂H₄) viel weniger bevorzugt ist als der Verlust von einem, drei oder mehr Kohlenstoffatomen. Das schließt einen Cyclopentyl-Substituenten aus und deutet auf eine Isopentenylgruppe. Die Lage der Doppelbindung wurde durch NMR-Spektroskopie geklärt^[7]. Das Spektrum zeigt die Signale der zwei aromatischen Adenosin-Wasserstoffe in unveränderter Lage bei 8,1 und 8,3 ppm (relative Intensität je 1). Das Signal bei 8,1 ppm ist der Resonanz eines Amidin-Wasserstoffs überlagert, der langsam gegen Deuterium ausgetauscht wird (relative Intensität 1); daraus darf auf eine zusätzliche Substitution am gleichen Stickstoffatom geschlossen werden, d. h. auf eine Substitution der NH₂-Gruppe in 6-Stellung durch den Isopentenylrest. Bei 5,94 ppm (Intensität 1) und 3,84 ppm (Intensität 2) erscheinen wie beim Adenosin die Signale für die 1'- und 5'-Wasserstoffe der Ribose. Der Bereich von 4,1–5,6 ppm ist wegen der starken Absorption des Lösungsmittels nicht analysierbar. Wesentlich ist das Auftreten eines scharfen Signals bei 1,73 ppm (Intensität 6), durch welches das Vorliegen einer 2,2-Dimethylvinylgruppierung im Isopentenylrest bewiesen wird.

Das Umwandlungsprodukt A hat die (massenspektrometrisch ermittelte) Zusammensetzung C₁₀H₁₃N₅. Die Unterschiede zwischen der Intensität der C₅H₅N₅-Ionen in diesem Spektrum und in dem von iPA, besonders die geringere Intensität des C₅H₅N₅-Ions, macht das Vorliegen einer Seitenkette am Aminostickstoff weniger wahrscheinlich. Säurekatalysierte Cyclisierung der Seitenkette mit dem Adenin-Ring würde diesem Spektrum besser entsprechen. Produkt B hat die Zusammensetzung C₁₀H₁₅N₅O, d. h. es ist ein Hydratisierungsprodukt des Basenanteils von iPA. Die hohe Intensität des C₃H₇O⁺-Ions deutet auf Wassereinlagerung an die Doppelbindung hin, unter Bildung einer C(OH)(CH₃)₂-Gruppierung. Dies wird noch wahrscheinlicher durch die Anwesenheit von Ionen (C₉H₁₂N₅O und C₇H₈N₅), die dem Verlust einer Methyl- bzw. Dimethylcarbinol-Gruppe entsprechen.

Gleichzeitig mit dieser Arbeit wurde iPA aus unfractionierter tRNS isoliert, in seiner Struktur aufgeklärt und synthetisiert^[8].

Es ist von Interesse, daß das pflanzliche Wachstumshormon Zeatin ein N(6)-(γ-Methyl-γ-hydroxymethyl-allyl)-adenin ist^[9] und daß auch N(6)-(γ,γ-Dimethylallyl)-adenin Wachstumswirkung zeigt^[10].

Eingegangen am 5. Mai 1966 [Z 217]

[1] X. Mitteilung über serin-spezifische Transfer-Ribonucleinsäuren. — IX. Mitteilung: H. G. Zachau, D. Dütting u. H. Feldmann in: Structure and Function of Genetic Elements. Symposium der Federation of European Biochemical Societies, Warschau 1966. Academic Press, im Druck.

[2] Abkürzungen: tRNS = Transfer-Ribonucleinsäure; iPA = N(6)-Isopentenyl-adenosin = N(6)-(γ,γ-Dimethylallyl)-adenosin.

[3] H. G. Zachau, D. Dütting u. H. Feldmann, Angew. Chem. 78, 392 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 422 (1966).

[4] Weitere Einzelheiten über iPA: H. Feldmann, D. Dürting u. H. G. Zachau, noch unveröffentlicht.

[5] Das Spektrum wurde mit einem CEC 21-110 Massenspektrometer durch direktes Verdampfen der Probe in die Ionenquelle aufgenommen. 10–20 µg iPA aus dem Eluat eines Papierelektropherogramms wurden verwendet; K. Biemann, P. Bommer u. Desiderio, *Tetrahedron Letters* 1964, 1725.

[6] K. Biemann u. J. A. McCloskey, *J. Amer. chem. Soc.* 84, 2005 (1962).

[7] Das Spektrum wurde mit einem A-60 Varian-Spektrometer in Verbindung mit dem C-1024 Time Averaging Computer mit ca. 300 µg iPA in D₂O aufgenommen.

[8] R. H. Hall, M. J. Robins, L. Stasiuk u. R. Thedford, *J. Amer. chem. Soc.*, im Druck.

[9] D. S. Letham, J. S. Shannon u. I. R. McDonald, *Proc. chem. Soc. (London)* 1964, 230.

[10] H. Q. Hamzi u. F. Skoog, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 51, 76 (1964).

Untersuchungen zur Sekundärstruktur löslicher Ribonucleinsäuren

Von Dipl.-Chem. H. Doepner, Dr. H. Seidel und Prof. Dr. F. Cramer

Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Göttingen

Die N-Oxidation von Adenosin-Einheiten in Polynucleotiden mit Perphthalsäure bei pH = 7,0 wird durch Basenpaarung gehemmt, wodurch man Kenntnisse über die Sekundärstruktur von s-RNS^[1] gewinnen kann^[2]. Wir haben diese Methode auf RNS verschiedener Herkunft und Präparation angewendet. Es wurde von uns s-RNS aus Bierhefe (AMP 19,8 %, UMP 24,5 %, GMP 28,2 %, CMP 27,5 %, terminales A 47 %) und s-RNS aus *E. coli* B (AMP 20,5 %, UMP 18,2 %, GMP 30,2 %, CMP 31,1 %, terminales A 34,0 %) in „nativem“ Zustand und nach Hitzedenaturierung und Abkühlen untersucht. Die Versuchsreihen wurden wie früher^[2] ausgewertet. Als Maß für den Oxidationsgrad diente der Quotient $E_{232\text{ m}\mu}/E_{259\text{ m}\mu}$. Mit Hilfe einer Eichkurve wurde daraus auf den mittleren Gehalt oxidierter AMP-Einheiten im Molekül und durch Addition der restlichen Basen im analytisch ermittelten Verhältnis auf die mittlere Gesamtzahl der pro Molekül in einsträngigen Bereichen vorhandenen Nucleotide geschlossen.

	s-RNS aus			
	Bierhefe		<i>E. coli</i> B	
	nativ	erhitzt und abgekühlt	nativ	erhitzt und abgekühlt
Endoxidationsgrad (E_{232}/E_{259})	0,825	1,080	0,910	1,025
Oxidierter AMP-Einheiten (Mittel pro Molekül)	2,68	4,93	3,41	4,44
Nucleotideinheiten in einsträngigen Bereichen (Mittel pro Molekül)	13,54 (18 %)	24,93 (32 %)	16,64 (23 %)	21,67 (30 %)
Mittlere Nucleotidzahl pro Molekül	77	77	73	73
Basenpaarungen (Mittel pro Molekül)	$\frac{77-14}{2} = 31,5$	$\frac{77-25}{2} = 26$	$\frac{73-17}{2} = 28$	$\frac{73-22}{2} = 25,5$
Hyperchromie der unbehandelten s-RNS (0,4 M Phosphat; 0,01 M Mg ²⁺)	35 %	19 %	25 %	19 %

Die geringere Oxidierbarkeit von s-RNS aus Bierhefe im Vergleich zur s-RNS aus *E. coli* dürfte auf den höheren UMP-Gehalt zurückzuführen sein und steht in Übereinstimmung mit der höheren Hyperchromie^[3]. Erhitzt man s-RNS längere Zeit über den T_m-Wert^[1] und kühlt dann langsam ab, so steigt die Oxidierbarkeit in beiden Fällen beträchtlich, gleichzeitig sinkt die Hyperchromie. Bestimmt man durch Subtraktion der im Mittel pro Molekül in einsträngigen Bereichen vorhandenen Nucleotideinheiten von der mittleren Gesamtnucleotidzahl^[4] die Zahl der in

doppelsträngigen Bereichen befindlichen Nucleotide (und daraus die Zahl der Basenpaare) und trägt diese graphisch gegen die Hyperchromiewerte auf, so ergibt sich zwischen ca. 15 und 40 % Hyperchromie eine nahezu lineare Abhängigkeit. Die früher^[2] unter anderen Bedingungen gewonnenen Daten über N-Oxidierbarkeit und Hyperchromie von s-RNS aus Bäckerhefe gehorchen innerhalb der Fehlergrenze dieser Abhängigkeit. Damit läßt sich die Hyperchromie von s-RNS ganz allgemein in eine direkte Beziehung zum Basenpaarungsgrad setzen, der mit Hilfe der N-Oxidation ermittelt werden kann. Vermutlich hat s-RNS eine variable Sekundärstruktur, die stark von der Mg²⁺-Konzentration und vielleicht noch von anderen Faktoren abhängt. Es bietet sich nunmehr die Möglichkeit, durch eine Hyperchromiemessung mit geringsten Substanzmengen unter zellähnlichen Bedingungen den Basenpaarungsgrad zu ermitteln.

Eingegangen am 2. Mai 1966 [Z 218]

[1] Abkürzungen: A = Adenosin. – s-RNS = lösliche Ribonucleinsäure. – AMP = Adenosinmonophosphat. – UMP = Uridinmonophosphat. – CMP = Cytidinmonophosphat. – GMP = Guanosinmonophosphat. – T_m-Wert = Temperatur beim halben Extinktionsanstieg. – E = Extinktion.

[2] H. Seidel u. F. Cramer, *Biochim. biophysica Acta* 108, 367 (1965).

[3] Unter Hyperchromie versteht man den Extinktionsanstieg bei der thermischen Auflösung geordneter Strukturen.

[4] G. L. Brown u. G. Zubay, *J. molecular Biol.* 2, 287 (1960); J. E. M. Midgley, *Biochim. biophysica Acta* 108, 340 (1965); T. Lindahl, B. B. Henley u. J. R. Fresco, *J. Amer. chem. Soc.* 87, 4961 (1965).

Proteinsynthese in Rattenleber-Chromatin und Chromatin-Fractionen^[1]

Von Doz. C. E. Sekeris, W. Schmid, Dr. D. Gallwitz und Dr. I. Lukacs

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Marburg

Neben der „klassischen“ Protein-Biosynthese an messenger-RNS und Ribosomen, die auch im Zellkern nachgewiesen wurde^[2], gibt es im Zellkern offenbar noch eine anders verlaufende Proteinsynthese. Wir fanden, daß isoliertes Chromatin

aus Rattenleber-Zellkernen [¹⁴C]-Leucin in Protein einbaut. Das neue Protein synthetisierende System zeigt folgende Eigenschaften (Tabelle):

1. Der Einbau von radioaktiv markierter Aminosäure in Protein ist gegen Ribonuclease resistent.
2. Die Proteinsynthese ist von der Zugabe aminosäure-aktivierender Enzyme unabhängig.
3. Die Proteinsynthese wird durch messenger-RNS nicht stimuliert.