

[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.