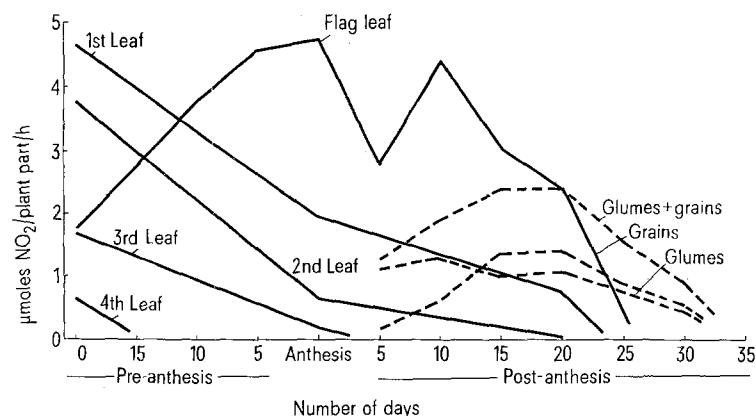




NR activity in leaves and developing ears (grains and glumes), expressed as $\mu\text{mole NO}_2^-$ released on total plant part basis.

nitrogen fertility levels viz. N_0 , N_{60} , N_{120} and N_{180} (kg N/hect). Nitrogen was applied in the form of urea in 2 equal split doses, one at the time of sowing as basal dose and the other in 60-day-old plants. NR activity in the plants grown at N_{120} was determined by the in vivo method of KLEPPER et al.⁴ For determination of NR in the grains, these were cut in half and incubated for 1 h. After incubation, the medium with the tissues was boiled in water-bath for effective removal of the nitrite.

Results and discussion. It was observed that NR activity ($\mu\text{moles of NO}_2^-$ released per h) in the grains increased with age. Highest activity was between 15–20 days followed by a decrease. Little or no activity was detectable at 32–35 days.

On a per-gram fresh weight basis, decrease in NR activity in the 1st, 2nd, 3rd and 4th leaves (counting from top downwards) after anthesis was observed. NR activity was high in the flag leaf and was detectable up to 25–27 days. Activity in the grains and glumes was low and was detectable up to 30–32 days. However, it was

observed that the total leaf area available for NR activity decreased after anthesis, while that of ears viz. grains and glumes showed an increase. The approximate ratio of leaf to ear (fresh weights) was 1:1 at 10 days after anthesis in plants grown at 4 different levels. It shifted to 1:8 in the case of N_0 and approximately 1:5 at all other fertility levels at 30 days stage (Table).

Thus calculation on NO_2^- μmoles released per plant part basis viz. leaves, ears (grains and glumes) show distinctly that within 10–32 days the ear contributes significantly to nitrate assimilation (Figure). The above findings are of interest from the viewpoint of elucidation of biochemical factors affecting protein accumulation in the wheat grains.

Zusammenfassung. Die Fruchtstände der Weizenpflanzen reduzieren während ihrer Entwicklung beachtliche Mengen von Nitratstickstoff.

T. V. R. NAIR and Y. P. ABROL

Nuclear Research Laboratory, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi 110012 (India), 2 May 1973.

Fresh weight of ears and leaves at different post anthesis stages at 4 nitrogen fertility levels (var. Kalyansona)

Fertility levels	Plant part	No. of days after anthesis		
		10	20	30
Fresh weight (g) *				
N ₀	Ears	4.9	10.4	15.8
	Leaves	6.2	3.6	1.9
N ₆₀	Ears	9.8	22.4	23.7
	Leaves	10.6	9.0	5.5
N ₁₂₀	Ears	13.9	26.4	23.0
	Leaves	17.0	7.3	3.9
N ₁₈₀	Ears	20.3	21.4	28.6
	Leaves	25.9	10.1	5.3

* Average of 5 plants.

¹ R. F. WILLIAMS, A. Rev. Pl. Physiol. 6, 25 (1955).

² R. H. M. LANGER, in *The Growth of Cereals and Grasses* (Ed. FL. L. MILTHORPE and J. D. IVINS; Butterworths, London 1966), p. 213.

³ P. J. RANDALL, Proc. Symp. Biology of Storage Proteins Canberra (1972).

⁴ L. KLEPPER, D. FLESHER and R. H. HAGEMAN, Pl. Physiol. 48, 580 (1971).

⁵ S. C. RAO and L. I. CROY, Agric. Fd. Chem. 20, 1138 (1972).

⁶ T. V. R. NAIR and Y. P. ABROL, Proc. 2nd Sabrao Congress, New Delhi (1973).

⁷ L. J. CRUZ, C. G. CAGAMPANG and B. O. JULIANO, Pl. Physiol. 46, 743 (1970).

⁸ J. A. JOHNSON and J. P. MATTERN, Summary Report of Research Findings, Agency for International Development, Department of State, Washington, D.C. (1972).

⁹ J. S. D. GRAHAM and R. K. MORTON, Aust. J. biol. Sci. 16, 357 (1963).

Zur Biosynthese von Biopterin in Säugetieren

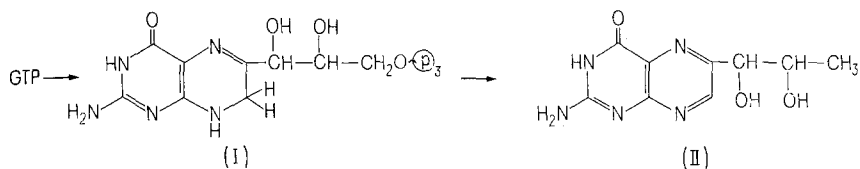
Biopterin ist ein essentieller Kofaktor zur Biosynthese von Adrenalin und Serotonin im Organismus von Säugetieren¹⁻³. Im menschlichen Harn wurden bisher Biopterin, Sepiapterin und Neopterin gefunden⁴⁻⁶. Jedoch ist die Herkunft dieser Substanzen bei Säugetieren noch nicht geklärt.

Zur Untersuchung dieser Fragestellung injizierten wir männlichen Ratten und Mäusen Ringer's Lösung mit ^{14}C -GTP (U) (jeweils 2 μCi in 0,2 ml Lösung) in die Schwanzvenen. Dem nach der Applikation eine Woche lang gesammelten Urin wurde nichtradioaktives Biopterin (jeweils 4 μMol) hinzugefügt. Der Urin wurde mit

Umwandlung von ^{14}C -GTP (U) in Biopterin bei Mäusen und Ratten

Tiere	Spezifische Aktivität von appliziertem ^{14}C -GTP (U) (mCi/mM)	Spezifische Aktivität von Biopterin (cpm/ μM)		Spezifische Aktivität nach Oxydation (%) ^a
		vor Oxydation	nach Oxydation	
Maus (5)	500	330 $\pm$ 14	268 $\pm$ 17	81 $\pm$ 5
Ratte (5)	10	186 $\pm$ 12	137 $\pm$ 10	74 $\pm$ 7

^aTheoretischer Wert, wenn Seitenkette von Neopterin stammt: 78%.



Essigsäure angesäuert (pH 4) und mit Aktivkohle (7 g) behandelt. Nach dem Auswaschen mit Wasser wurden die an der Aktivkohle adsorbierten Komponenten mit einer Mischung aus 3%igem wässrigen Ammoniak und Äthanol (3:1) eluiert. Das Eluat wurde im Vakuum eingengt. Die weitere Reinigung des Biopterins erfolgte papierchromatographisch (Papier: Toyoroshi, Nr. 52, 7 Bögen, 40 $\times$ 30 cm; Lösungsmittel: 2-Propanol, 1%iger wässriger Ammoniak, 2:1), darauf mit einer DEAE-Sephadex-Säule (Chlorid-Form) (3 $\times$ 25 cm, Entwickler: Wasser) und nochmals mittels Papierchromatographie (Papier: Whatman, Nr. 1, 40 $\times$ 30 cm, 7 Bögen; Lösungsmittel: 1. n-Butanol, Essigsäure, Wasser, 4:1:1; 2. 3%ige Lösung von Ammoniumchlorid). Die abschliessende Reinigung erfolgte nochmals durch Zusatz von Aktivkohle (100 mg) und Elution (s.o.). Ausbeute an Biopterin: 3 μMol . Eine wässrige Lösung des auf diese Weise isolierten Biopterins wurde 30 min lang im siedenden Wasserbad mit 1 ml einer Permanganatlösung (gesättigt in 0,1 N NaOH) behandelt. Das entstandene Produkt (6-Carboxypterin) wurde papierchromatographisch (Papier: Whatmann, Nr. 1, 40 $\times$ 30 cm, 3 Bögen; Entwickler: 1. 2-propanol, 1%iger wässriger Ammoniak, 2:1, 2. n-Butanol, Essigsäure, Wasser, 4:1:1) gereinigt. Ausbeute an 6-Carboxypterin: 1,2 μMol . Die Mengen des Biopterins bzw. des 6-Carboxypterins wurden UV-spektrometrisch ermittelt⁷, die Messung der Radioaktivität erfolgte mit einem Beckmann-Flüssigkeits-Scintillationszähler (LB 250) (Probe gelöst in 0,01 N NaOH, darauf 10 ml Bray's Scintillationslösung zugesetzt⁸).

Die Ergebnisse der Experimente sind in der Tabelle zusammengefasst. Die experimentellen Befunde zeigen erstmalig und eindeutig, dass Biopterin in Säugetieren aus GTP biosynthetisiert wird. Das Carboxypterin weist nur etwa 7/9 der spezifischen Radioaktivität des Bio-

pterins auf. Damit wird belegt, dass Biopterin bei Säugetieren lediglich durch eine Umlagerung der Seitenkette des Dihydroneopterin, dem unmittelbaren Folgeprodukt des GTP auf dem Weg zur Biosynthese des Biopterins synthetisiert wird, d.h. dass das Neopterin-Molekül als ganzes erhalten bleibt (Formel: I, Dihydroneopterin-3'-phosphat; II, Biopterin). Dieser Befund stimmt mit den Ergebnissen der Biopterinbiosynthese bei Insekten und Amphibien überein⁹⁻¹⁰. Weiterhin schliesst dieser Befund die Möglichkeit aus, dass die durch die Darmflora der Mäuse bzw. Ratten synthetisierte Folsäure als Vorstufe zur Bildung des Biopterins in Frage kommt. Im Einklang mit unseren Resultaten stehen auch die Beobachtungen von PABST und REMBOLD¹¹, dass sich die Biopterin-Exkretion im Harn von Ratten nach Verabreichung von Antibiotika zur Tötung der Mikroflora nicht verringert und mit dem Befund, dass der Biopterin-Spiegel im Harn der gleichen Tiere trotz einer Diät ohne Biopterin unverändert bleibt. Inwieweit unsere Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind, bleibt der zukünftigen Forschung überlassen.

Summary. Biosynthesis of biopterin in mice and rats was studied. After vascular injection of ^{14}C -GTP (U) in mice and rats, radioactive biopterin was isolated from the urine. The specific radioactivity of 6-carboxypterin obtained by oxidation of biopterin was proved to be 7/9 that of biopterin. The result definitely shows that biopterin is biosynthesized from GTP in mice and rats, and the sidechain of biopterin is derived directly from the ribose moiety of GTP.

K. SUGIURA und M. GOTO

Chemisches Institut der Gakushuin-Universität,
Toshima-ku, Tokyo 171 (Japan), 26. Juni 1973.

¹ S. KAUFMAN, Proc. natn. Acad. Sci. USA 50, 1085 (1963).

² T. NAGATSU, M. LEVITT and S. UDENFRIEND, J. biol. Chem. 239, 2910 (1964).

³ S. NAKAMURA, A. TEHIYAMA and O. HAYAISHI, Fedn Proc. 24, 604 (1965).

⁴ E. L. PATTERSON, M. H. SALTZ and E. L. R. STOKSTAD, J. Am. chem. Soc. 78, 5871 (1956).

⁵ A. SAKURAI and M. GOTO, J. Biochem., Tokyo 61, 142 (1967).

⁶ T. FUKUSHIMA and T. SHIOTA, J. biol. Chem. 247, 4549 (1972).

⁷ K. SUGIURA and M. GOTO, J. Biochem., Tokyo 64, 657 (1968).

⁸ G. A. BRAY, Analyt. Biochem. 1, 279 (1960).

⁹ W. B. WATT, J. biol. Chem. 242, 565 (1967).

¹⁰ T. FUKUSHIMA, Archs Biochem. Biophys. 139, 361 (1970).

¹¹ W. PABST and H. REMBOLD, Z. Physiol. Chem. 344, 107 (1966).