

We wish to express our thanks to Miss J. MANN for carrying out phosphorylation measurements and to the Deutsche Forschungsgemeinschaft for financial support.

Received December 21, 1967

- [1] RUMBERG, B., u. U. SIGGEL: Z. Naturforsch. (1968) (in press). — [2] JUNGE, W., u. H. T. WITT: *ibid.* (1968) (in press). — [3] MITCHELL, P.: Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 41, 445 (1966). — [4] EMERSON, R., u. W. ARNOLD: J. Gen. Physiol. 16, 191 (1932). — [5] IZAWA, S., u. N. E. GOOD: Plant. Physiol. 41, 533 (1966). — [6] JUNGE, W., u. H. T. WITT: Ber. Bunsenges. 71, 923 (1967). — [7] MENKE, W.: Z. Naturforsch. 15b, 479 (1960). — [8] WITT, H. T.: Proc. V. Nobel Symp. 1967, p. 261; Almquist u. Wiskell Stockholm. Interscience Publ., New York, London, Sydney. — [9] BANGHAM, A. D., et al.: J. Mol. Biol. 13, 238 (1965).

ϵ -N-Trimethyllysin, eine neue Aminosäure in Histonen

K. HEMPEL und H. W. LANGE

Institut für Medizinische Isotopenforschung der Universität Köln

L. BIRKOFER

Institute für Organische Chemie der Universitäten Köln und Düsseldorf

Das Vorkommen von ϵ -N-Methyllysin [1] und ϵ -N-Dimethyllysin [2] in Histonen ist bekannt. Uns gelang es jetzt zu zeigen, daß auch das bisher noch unbekannte ϵ -N-Trimethyllysin regelmäßig in Histonen vorkommt. Die Aminosäure-Analyse

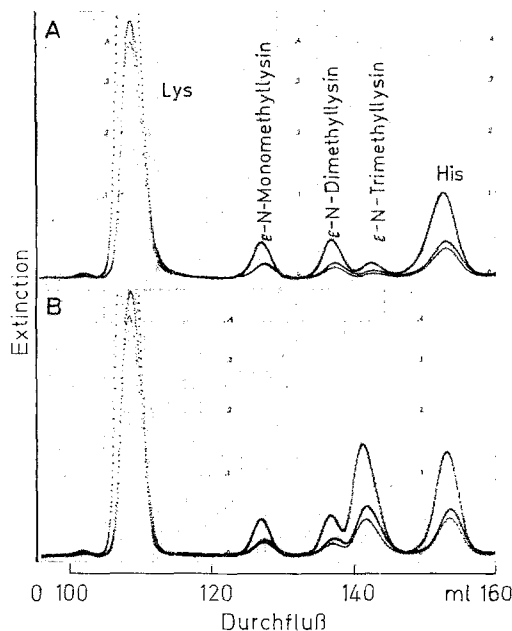


Fig. 1. Ausschnitt der Aminosäure-Analyse eines Histon-Hydrolysats (2 mg arginin-reiche Histon-Fraktion aus Kalbthymus, Type IV Sigma, USA) ohne (A) und nach Zusatz (B) von synthetischem ϵ -N-Trimethyllysin (0,2 μ Mol). Aminosäure-Analysator Typ Unichrom (Beckman, München), Ionenaustauscher-Harz PA-35, Säulendurchmesser 0,9 cm, Füllhöhe 36 cm, Puffer: 0,35 n Na-Citrat pH 5,836, Temp. 30 °C, Flußrate 30 ml/h

(Fig. 1A) zeigt zwischen Lysin und Histidin außer den bekannten methylierten Lysinen eine weitere Ninhydrin-positive Verbindung. Diese Substanz besitzt das gleiche säulenchromatographische Wanderungsverhalten wie synthetisches ϵ -N-Trimethyllysin (Fig. 1B), das von uns erstmals dargestellt wurde [3]. Andere basische Aminosäuren werden unter den Analysen-Bedingungen gut abgetrennt und wandern entweder schneller als Lysin (Hydroxylysin, Allohydroxylysin, α -N-Methyllysin und Ornithin) oder langsamer als Histidin (1-N-Methylhistidin, 3-N-Methylhistidin und Arginin). Bei der Routine-Bestimmung basischer Aminosäuren [4] wandern ϵ -N-Trimethyllysin und ϵ -N-Dimethyllysin wie Histidin; beide Aminosäuren sind deshalb in den Analysen-

Angaben von Histidin mit enthalten. ϵ -N-Monomethyllysin verhält sich dagegen wie Lysin.

Daß es sich bei der in Histonen gefundenen neuen Aminosäure wirklich um ein Lysin-Derivat handelt, geht auch aus Versuchen hervor, bei denen die Histone verschiedener Organe der Ratte und von Ehrlich-Asciteszellen der Maus durch Injektion von 3 H-Lysin in vivo radioaktiv markiert wurden. In den aus gereinigten Zellkernen (Leber, Niere, Dünndarm, Milz, Ascites-Zellen) isolierten Histonen waren stets nicht nur Lysin, ϵ -N-Monomethyllysin und ϵ -N-Dimethyllysin radioaktiv, sondern auch ϵ -N-Trimethyllysin.

ϵ -N-Trimethyllysin kam zusammen mit ϵ -N-Monomethyllysin und ϵ -N-Dimethyllysin in den Histonen aller von uns bisher analysierten Kerne (Ratten-Leber, -Niere, -Dünndarm, -Milz, Kalbs-Thymus und Ascites-Zellen der Maus) und in allen daraus isolierten Histon-Fractionen [5] (F 1, F 2a, F 2b u. F 3) vor. Auch die basischen Proteine, extrahierbar mit 1,25 n HCl/abs. Äthanol (1:4, v/v) [5]; von Mitochondrien, Mikrosomen und Zellsaft aus Zytoplasma der Leber (Ratte) enthalten ϵ -N-Trimethyllysin sowie ϵ -N-Monomethyllysin und ϵ -N-Dimethyllysin. Praktisch frei von methylierten Lysinen waren dagegen das Residual-Eiweiß der Kerne (Leber, Niere, Darm und Ascites-Zellen), Protamine (Clupein und Salmin grade I d. Sigma-Biochem., USA), Serum-Albumin und γ -Globulin vom Rind sowie Ribonuclease A (Rinder-Pankreas), α -Chymotrypsinogen A (Rinder-Pankreas), Insulin (Rind), α -Amylase Typ II (B. subtilis) und Aceton-Trockenpulver von E. coli und Streptococcus faecalis.

Der Gehalt an ϵ -N-Trimethyllysin variierte bei den verschiedenen Histonen erheblich. Arginin-reiche Histone (F 2a u. F 3) enthielten stets sehr viel mehr ϵ -N-Trimethyllysin sowie ϵ -N-Mono- und ϵ -N-Dimethyllysin als lysin-reiche Histon-Fractionen (F 1 und F 2b). Von den bisher untersuchten Histonen enthielt das F 3-Histon der Niere die höchste Konzentration an methylierten Lysinen: ϵ -N-Monomethyllysin 2,3 μ Mol pro 100 mg Proteine, ϵ -N-Dimethyllysin 5,0 μ Mol und ϵ -N-Trimethyllysin 2,0 μ Mol.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Ministerium für Wissenschaftliche Forschung danken wir für materielle Hilfe.

Eingegangen am 27. Oktober 1967

- [1] MURRAY, K.: Biochemistry 3, 10 (1964). — [2] PAIK, K. W., u. S. KIM: Biochem. Biophys. Res. Commun. 27, 479 (1967). — [3] HEMPEL, K., H. W. LANGE u. L. BIRKOFER: In Vorbereitung. — [4] SPACKMANN, D. H., W. H. STEIN u. S. MOORE: Analytic. Chem. 30, 1185 (1958). — [5] JOHNS, E. W.: Biochem. J. 92, 55 (1964).

Biosynthesis of Ecdysterone from Cholesterol by a Plant

E. HEFTMANN, H. H. SAUER, and R. D. BENNETT

Western Regional Research Laboratory*, Albany, and Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena

Ecdysterone (I), a steroid hormone which controls molting in insects and crustaceans, has been isolated from several plants [1]. KARLSON and HOFFMEISTER [2] have shown that cholesterol (II) is a precursor of the related molting hormone, ecdysone (20-desoxyecdysterone), in *Calliphora erythrocephala* larvae, but nothing is known about the biosynthesis of ecdysterone. We have therefore undertaken an investigation of this problem, using the conifer *Podocarpus elata*, which is known to contain ecdysterone [3]. Cholesterol, the major animal sterol, is now known to be present in many plants [4], and it is involved in the biosynthesis of several types of plant steroids [5, 6]. It thus seemed reasonable to try cholesterol as a precursor of ecdysterone.

