

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

MARIO BELLANDO, NEVIO FIUSSELLO

## **I precursori non fosforilati degli acidi nucleici nei cotiledoni germinanti di *Phaseolus vulgaris***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 41 (1966), n.5, p. 365–367.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1966\\_8\\_41\\_5\\_365\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_41_5_365_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

*SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



**Fisiologia vegetale.** — *I precursori non fosforilati degli acidi nucleici nei cotiledoni germinanti di Phaseolus vulgaris.* Nota di MARIO BELLANDO e NEVIO FIUSSELLO (\*), presentata(\*\*) dal Socio C. CAPPELLETTI.

SUMMARY. — The Authors have isolated and identified the purine and pyrimidine bases and related nucleosides occurring in the free state in cotyledons of etiolated dwarf bean seedling.

180 cotyledons from young etiolated plants (23–26 cm in length) were collected, washed and homogenized at 4°C. The resulting slurry was dialyzed against fresh water and the proteins and polysaccharides-free solution concentrated and analyzed in an ion-exchange column (Dowex 2 X, formate). The elution was achieved with ammonium formate solutions with discontinuously increasing ionic strength and pH. The fractions were collected, dried in vacuo and the solid ammonium formate sublimed.

The constituents were purified chromatographically and identified by their U.V. absorption spectra at various pH. The relative abundance of the components was also, when possible, roughly evaluated.

#### MATERIALE E METODO.

Un centinaio di semi di fagiolo è stato fatto germinare al buio in adatte condizioni di umidità e di temperatura, fino ad ottenere plantule di altezza compresa tra i 23 e i 26 cm i cui cotiledoni sono stati asportati ed omogeneizzati a bassa temperatura; l'omogenato è stato quindi dializzato a lungo contro acqua rinnovata di frequente fino ad esaurimento praticamente completo delle sostanze dializzabili. Le soluzioni diluite così ottenute, sono state concentrate a freddo fino a consistenza gommosa in evaporatore rotante, ridissolte in 20 cc di H<sub>2</sub>O e portate a pH 11 con NH<sub>3</sub> concentrata; si forma in queste condizioni un precipitato bianco abbondante, che viene allontanato per centrifugazione e scartato, non contenendo esso nucleobasi e loro derivati.

TABELLA I.

ELUENTE		pH	$\mu$	Sostanze eluite
Formiato ammonico .....	a	10,5	0,01	CyR – CyDR – Cy AR – ADR
	b	8,2	0,01	TyDR – U – UR
	c	7,5	0,01	A – Gu – GuR – GuDR
	d	7,2	0,05	Hyp.
	e	7,2	0,10	Trypt.

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto Botanico di Torino (Dir. prof. A. Ceruti).

(\*\*) Nella seduta del 12 novembre 1966.

La soluzione limpida risultante viene immessa in una colonna cromatografica riempita di resina Dowex 2 X [3] [4], forma  $\text{HCOO}^-$  ed i componenti eluiti con soluzioni di formiato ammonico a pH e molarità crescenti (ved. Tabella I).

L'eluzione ha luogo a temperatura ambiente e l'andamento è seguito e registrato automaticamente da un densitometro Uvicord ( $\lambda = 253$ ) (ved. fig. 1).

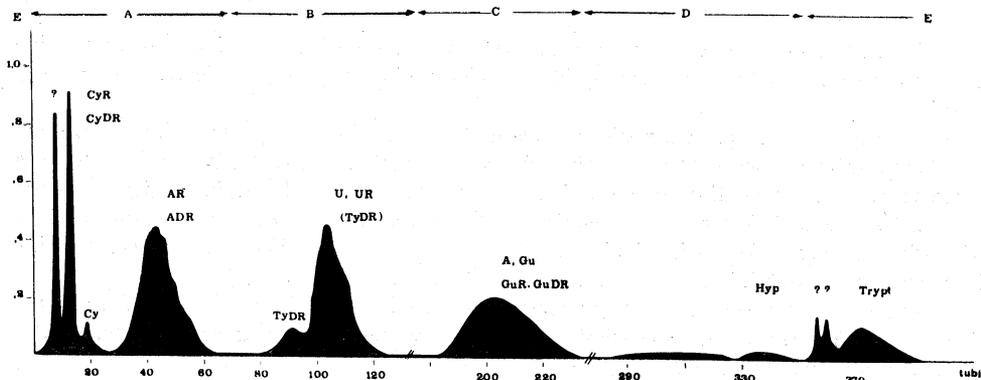


Fig. 1. - Diagramma di eluzione dell'estratto grezzo.

Colonna: Resina Dowex 2 X, 250-400 mesh, forma  $\text{HCOO}^-$  - sezione 2 cm<sup>2</sup>, altezza della resina 40 cm;  
veloc. di efflusso: 1 ml/min; 1 tubo = 10 ml;  $\lambda$  di registrazione: 254 m $\mu$ .

Le diverse frazioni vengono tirate a secco in evaporatore rotante a 30° C ed il formiato ammonico allontanato per sublimazione sotto vuoto.

I derivati nucleinici presenti vengono ulteriormente separati e purificati per via cromatografica [4] [5] in presenza di marker puri e confermati con esami spettrofotometrici a diversi valori di pH.

TABELLA II.

TUBI	Componenti	Abbondanza relativa (in moli)
1-9 .....	?	
10-16 .....	CyR - CyDR	CyR : CyDR = 100 : 4
17-28 .....	Cy	Cy :
28-70 .....	AR - ADR	AR : ADR = 100 : 9
80-130 .....	UR - U - TyDR	UR : U : TyDR = 100 : 9 : 6
180-230 .....	A - GuR - Gu - GuDR	A : GuR : Gu : GuDR = 100 : 17 : 3 : 1
342-360 .....	Ipox.	

In molti casi è stato necessario ricorrere a cromatografie bidimensionali per ottenere una separazione soddisfacente dei costituenti la frazione dalle impurità fluorescenti, presenti sovente in quantità preponderante.

Sono state inoltre determinate spettrofotometricamente le abbondanze relative dei vari costituenti le singole frazioni: esse hanno valore semiquantitativo specialmente nei casi in cui la stessa sostanza entra in due frazioni diverse a causa della imperfetta separazione dei picchi (ved. Tabella II).

La frazione 1-9, gommosa ed incristallizzabile non è stata esaminata per le basi citosiniche secondarie eventualmente presenti a causa della fortissima quantità di impurezza di varia natura presenti, e non eliminabili con il procedimento descritto.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] M. BELLANDO, *I precursori non fosforilati degli A.N. nei cotil. di Ph. vulgaris allo stato quiescente*, « Acc. Naz. dei Lincei », Rend. Sc. fis. mat. nat., ser. VIII, vol. XXXIV, 5 (1963).
- [2] M. BELLANDO e N. FIUSSELLO, *I precursori non fosforilati degli A.N. negli embrioni germinanti di Ph. vulgaris*, « Acc. Naz. dei Lincei », Rend. Sc. fis. mat. nat., ser. VIII, vol. XL, 1 (1966).
- [3] W. E. COHN, « J. Am. Chem. Soc. », 72, 1471 sgg. (1950).
- [4] E. CHARGAFF e J. N. DAVIDSON, *The nucleic acids*, N. Y. (1955).
- [5] G. DUPONT e A. KIRRMAN et al., *Chromatogr. en Ch. org. et biol.*, Paris (1960).
- [6] E. STAHL., *Dunnschichtchromatographie*, Berlin (1962).
- [7] H. M. MERSCHENSON, *U.V. and visible absorption spectra*, N. Y. (1956).