

SUR LA DÉGRADATION DE LA GLYCOCYAMINE PAR
PSEUDOMONAS OVALIS.

GLYCOCYAMINASE ET ARGININEDIHYDROLASE BACTÉRIENNES

par

JEAN ROCHE, HENRI GIRARD, GABRIELLE LACOMBE ET MARCEL MOURGUE

*Biochimie générale et comparée, Collège de France et Service des Fermentations,
Institut Pasteur, Paris (France)*

I. INTRODUCTION ET OBJET DU TRAVAIL

La glycocyamine (acide guanidoacétique) est un produit intermédiaire de la créatinogénèse dont la synthèse enzymatique a suscité un important ensemble de travaux, inaugurés par DUBNOFF ET BORSOOK¹. Il n'existe en revanche que peu de données sur sa dégradation. KARASHIMA², puis FELIX ET SCHNEIDER³, ont constaté que des purées de foie additionnées de glycocyamine, sur laquelle l'argininase est inactive (DAKIN⁴), s'enrichissent en urée et ils en ont conclu que l'acide guanidoacétique y est alors hydrolysé par un enzyme spécifique. MOURGUE ET LACOMBE⁵ ont repris ces expériences en dosant la glycocyamine introduite dans le milieu et établi qu'elle n'en disparaissait pas dans des conditions aseptiques; ni le foie, ni le rein, ni la muqueuse intestinale des mammifères ne renferment de glycocytaminase. Des observations isolées ont montré que des micro-organismes sont aptes à décomposer l'acide guanidoacétique avec formation d'urée. DUBOS ET MILLER⁶ ont isolé du sol des bactéries qui, une fois adaptées à la créatine, sont actives sur celle-ci et, à un faible degré, sur la glycocyamine; enfin, KEPPEL ET BEARD⁷ ont séparé de l'urine humaine putréfiée un *Pseudomonas* non défini, libérant de l'urée à partir de multiples dérivés guanidiques, parmi lesquels l'acide guanidoacétique.

La dégradation de produits de ce type par des bactéries peut présenter diverses autres modalités et plusieurs enzymes sont susceptibles d'y participer. L'argininedihydrolase réalise directement l'hydrolyse complète du groupement guanidique monosubstitué de l'arginine en acide carbonique et ammoniac (HILLS⁸, NIVEN, SMILEY ET SHERMANN⁹) dans des cultures de staphylocoques, tandis que la guanidodésimidase des bactéries saprophytes donne naissance à de l'ammoniac et à un uréide à partir du même corps, de l'agmatine, de la créatine (ACKERMANN¹⁰, LINNEWEH¹¹). Aussi l'étude de la décomposition de la glycocyamine par des microorganismes pose-t-elle de multiples problèmes. Nous l'avons entreprise, espérant caractériser une ou plusieurs glycocytaminases répondant à l'un ou à l'autre type de déguanidase actuellement connus (ROCHE¹²).

II. ACTION DES BACTÉRIES DU SOL SUR LA GLYCOCYAMINE

Nous avons tout d'abord recherché si des milieux renfermant des bactéries non

Bibliographie p. 422.

sélectionnées (sol, putréfaction) opèrent la dégradation de la glycocyamine. L'évolution de ce processus a été suivie par le dosage du groupement guanidique monosubstitué (DUMAZERT ET POGGI¹³), de l'urée (THIVOLLE ET SONNTAG¹⁴) et de l'ammoniac (distillation en présence de carbonate de lithium et titrage alcalimétrique).

Les bactéries de la terre de jardin, du fumier de Lapin, de l'urine humaine putréfiée sont actives dans des milieux constitués par: NaCl, 2.5 g; SO₄(NH₄)₂, 0.3 g; PO₄Na₂H, 0.74 g; glycocyamine, 1.0 g; eau ordinaire, 1 litre. Des essais poursuivis de p_H = 5.0 à 9.5 (addition d'HCl ou de NaOH) ont montré que le p_H optimum de la dégradation du substrat est de 8.0 à 8.6 et que la terre de jardin est la source la plus régulière en microorganismes actifs; aussi, l'avons nous seule retenue pour ces expériences préliminaires.

Après trois repiquages sur le milieu indiqué plus haut, on dispose de cultures relativement sélectionnées et dont le pouvoir glycocyaminasique augmente parfois sensiblement par adaptation. Les bactéries dégradent l'acide guanidoacétique uniquement en milieu aérobie en donnant naissance à de l'urée et à de l'ammoniac. Leur spécificité vis-à-vis des dérivés guanidiques est assez large; elles décomposent lentement la méthyl-guanidine, et, plus rapidement, la créatine, la créatinine, l'arginine (acide δ -guanido- α -aminovalérianique), l'agmatine (4 guanidobutylamine), l'acide arginique (acide δ -guanido- α -hydroxyvalérianique), les acides β -guanidopropionique, α -guanido- β -hydroxypropionique, α -guanidosuccinique et la N-thiométhylagmatine*, la dégradation de ces corps pouvant être due à l'action simultanée de divers enzymes. Etant donnée la sensibilité de l'arginase hépatique et de peptidases bactériennes à des effecteurs métalliques et à des corps susceptibles de former des complexes avec les métaux, nous avons étudié l'activité des uns et des autres vis-à-vis de la dégradation de la glycocyamine par les bactéries du sol. Ce processus, très peu sensible aux fluorures (inhibition de 15-20% par NaF 2. 10^{-2} M), est ralenti ou inhibé par de multiples formateurs de complexes (arrêt par KCN 2. 10^{-4} M, l'azide de sodium 1. 10^{-3} M, le diéthyldithiocarbamate de sodium 1. 10^{-3} M, la dithizone 2. 10^{-4} M, tous ces corps étant encore actifs à concentration dix fois plus faible). Sa vitesse n'est pas influencée par Mg⁺⁺ (SO₄Mg 2. 10^{-3} M), associé ou non à la cystéine; elle est diminuée à des degrés divers par Co⁺⁺, Zn⁺⁺ et Cu⁺⁺. L'action du sulfate de cobalt est nette à concentration 1. 10^{-3} M, celle du sulfate de zinc à 1. 10^{-4} M. Le sulfate de cuivre, inhibiteur à concentration 1. 10^{-5} M, arrête toute activité à partir de 1. 10^{-4} M. Par contre Fe⁺⁺ (SO₄Fe 1. 10^{-3} M) et Mn⁺⁺ (SO₄Mn 1. 10^{-3} M) accélèrent la décomposition de la glycocyamine et leurs effets sont renforcés par la présence de l-cystéine (2 à 4. 10^{-3} M), laquelle est par elle-même à peu près sans action. C'est là un phénomène analogue à celui observé par MASCHMANN et de nombreux auteurs sur les peptidases de bactéries et de tissus animaux.

Ces faits établissent que les bactéries du sol dégradent la glycocyamine et diverses guanidines monosubstituées, mais ils n'apportent aucune précision en ce qui concerne le nombre et la nature des enzymes participant à ce phénomène. Il était indispensable pour entreprendre des recherches à ce sujet de disposer de cultures pures d'un micro-organisme, ce que nous avons pu réaliser.

* Les quatre derniers corps ont été synthétisés selon la méthode décrite par MOURGUE¹⁵, l'acide arginique par celle de FELIX ET MÜLLER¹⁶, les autres produits provenaient de la Maison HOFFMANN LA ROCHE.

III. ISOLEMENT D'UN *Pseudomonas* ACTIF SUR LA GLYCOCYAMINE (*Ps. ovalis*) ET ÉTUDE DE L'ACTION GLYCOCYAMINASIQUE

Les bactéries de la terre de jardin ont été cultivées sur un milieu renfermant:

phosphate disodique à 10%	1.25	ml
chlorure de potassium à 10%	1.00	„
sulfate de fer à 10%	1.25	„
sulfate de manganèse à 10%	0.50	„
sulfate de magnésium à 10%	0.50	„
glycoccyamine	0.375	g
eau de source q.s. p.	500.00	ml

Des prises d'essai de 20 ml de cette solution, réparties à raison de 20 ml dans des fioles d'ERLENMEYER de 250 ml et stérilisées à l'autoclave (20 min à 120°) ont été ensemencées avec 1 g de terre de jardin. La réaction de SAKAGUCHI devient négative en 24 heures de séjour à 30° en culture agitée (à la main ou mécaniquement au rythme de 100 périodes), ce qui traduit la dégradation de la glycoccyamine. Après deux ou trois repiquages, le milieu ne renferme plus qu'une seule espèce microbienne, très mobile, et l'on ensemence sur plaque de Petri contenant du bouillon nutritif gélosé ordinaire. Celui-ci-présente après 24 heures de séjour à 30° des colonies rondes à bords lisses, douées d'une fluorescence verte diffusant dans le milieu de culture. On en isole la bactérie par repiquage sur gélose. Son aptitude à décomposer la glycoccyamine ne paraît pas renforcée par la culture sur milieu renfermant l'acide guanidoacétique*. La technique de WINOGRADSKY¹⁷ sur plaque de silico-gel conduit à la séparation du même germe.

Celui-ci est un bâtonnet de 1.4 à 0.8 μ à extrémités arrondies non sporulé, porteur de 1 à 4 cils à l'un de ses pôles. Il présente par vieillissement des formes ovalaires. Très mobile dans les milieux liquides, on ne l'y rencontre que très rarement couplé. C'est un aérobie strict à Gram négatif, ne liquéfiant pas la gélatine, ne coagulant pas le lait tournesolé, ne se développant pratiquement pas à 37°, doué d'une fluorescence verte, non indologène; il n'hydrolyse pas l'amidon et acidifie les milieux renfermant du glucose, de l'arabinose, du mannose ou du galactose, mais non ceux contenant du saccharose, du lactose, du maltose ou du fructose. Ces caractères sont ceux d'une bactérie de la famille des *Pseudomonadaceae*, tribu des *Pseudomonadeae*, genre *Pseudomonas*. Les cinq espèces correspondant à cette définition sont *Pseudomonas putida*, *P. scissa*, *P. ovalis*, *P. striata*, et *P. denitrificans*. Comme le microorganisme étudié forme un voile mince à la surface du bouillon nutritif, il ne saurait s'agir ni de *P. putida*, ni de *P. scissa*, ni de *P. striata*. L'absence de réduction des nitrates dans les cultures exclut par ailleurs la présence de *P. denitrificans* et celle de *P. ovalis* a seule paru pouvoir être mise en cause. Les caractères de la bactérie isolée du sol et active sur la glycoccyamine sont identiques à ceux décrits par BERGEY¹⁸ comme propres à *Pseudomonas ovalis* CHESTER. Il est donc légitime de considérer que nos recherches ont été réalisées avec celui-ci ou avec une espèce très voisine, qu'il n'y a aucun inconvénient à désigner par ce nom suivi de la référence du présent travail**.

* Le caractère adaptatif de l'action glycocytaminasique de bactéries non sélectionnées est, de ce fait, propre à d'autres microorganismes.

** Nous remercions Monsieur le Professeur LEMOIGNE (Institut Pasteur, Paris), d'avoir bien voulu contrôler l'identification de la bactérie dont l'isolement, décrit ci-dessus, a été réalisé grâce à ses conseils.

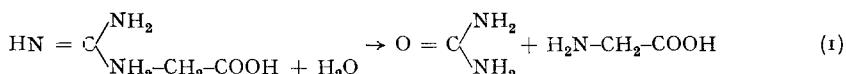
Mécanisme de l'action glycocyaminasique

Les dosages de glycocyamine, d'urée et d'ammoniac dans les filtrats des milieux de culture ont donné des résultats dont un exemple est reproduit dans le Tableau I avec les valeurs théoriques des rendements en produits de dégradation de la glycocyamine, calculées en admettant que celle-ci donne naissance par molécule à une molécule d'urée et à une molécule d'ammoniac.

TABLEAU I
DÉGRADATION DE LA GLYCOCYAMINE PAR *Pseudomonas ovalis*

Temps de l'expérience (heures)	Glycocyamine présente	Urée (mg)		Ammoniac (mg)	
		trouvé	théorique	trouvé	théorique
0	73.5	0	0	0	0
10.30	55.0	9.5	9.4	2.9	2.2
15.00	31.9	20.1	21.0	5.3	4.9
20.30	traces	36.5	37.0	8.4	8.7

La formation d'urée traduit nécessairement l'hydrolyse du groupement guanidique de la glycocyamine, laquelle libère sans doute par ailleurs du glycocolle, si elle s'opère comme celle de l'arginine sous l'action de l'arginase. Le rapport stoechiométrique entre les quantités de dérivé guanidique disparu et celles d'urée apparues correspond à la réaction:



Nous n'avons pu mettre en évidence dans le milieu que des traces de glycocolle (libération de formol par action de la ninhydrine après déprotéïnisation), mais des expériences de contrôle ont montré que ce corps est rapidement désaminé par la bactérie. Cette dernière s'est montrée dépourvue d'uréase et, de ce fait, l'ammoniac formé ne peut pas provenir d'une hydrolyse de l'urée. Par ailleurs, aucun produit de dégradation en C₂ du glycocolle n'a été mis en évidence dans le milieu (absence d'acides oxalique, glycolique, glyoxylique, et acétique recherchés par leur réactions spécifiques, à savoir: formation du sel de calcium du premier, formation d'acide oxalique par oxydation du second, réaction colorée du tryptophane en présence du troisième, formation de cacodyle à partir du dernier). Le glycocolle est sans doute métabolisé par la bactérie selon la réaction globale dont nous n'avons pas pu saisir les stades intermédiaires:



Dès lors, la formation d'urée et la disparition simultanée du groupement guanidique de la glycocyamine (réaction 1) peuvent être rapportées à l'action d'une hydrolase du type de l'arginase, dont il convenait d'étudier les caractères afin de l'identifier. Il n'a malheureusement pas été possible de le faire sur des préparations enzymatiques dépourvues de cellules. En effet, l'activité glycocyaminasique ne diffuse pas dans les milieux de culture et le traitement des bactéries par l'acétone la détruit; elle est en outre liée au développement des microorganismes et ne se manifeste pas au contact de *Pseudomonas ovalis* au repos. Aussi l'absence d'oxygène empêche-t-elle à la fois la pullulation de celui-ci, aérobiose strict, et la dégradation de l'acide guanidoacétique.

Les conditions particulières dans lesquelles l'on doit se placer pour observer la dégradation de la glycocyamine nous obligent à faire une réserve au sujet de l'interprétation des résultats obtenus. Il est en effet possible que ceux-ci traduisent un ensemble de processus complexes et non des réactions simples, comme celles envisagées ci-dessus. La correspondance rigoureuse entre l'urée formée et la glycocyamine décomposée par le microorganisme dépourvu d'uréase est néanmoins défavorable à cette hypothèse.

Effecteurs de l'action glycocyaminasique

Les faits observés sur les bactéries du sol non sélectionnées ont orienté l'étude des effecteurs de la réaction opérée par *Pseudomonas ovalis*. On trouvera dans le Tableau II quelques exemples des résultats obtenus en présence de Fe^{++} , de Mn^{++} et de *l*-cystéine, associée ou non à ces ions, et de divers formateurs de complexes.

TABLEAU II
EFFECTEURS DE L'ACTION GLYCOCYAMINASIQUE DE *Pseudomonas ovalis*

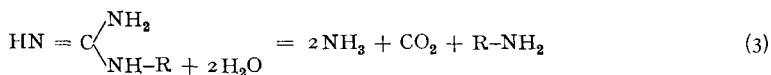
Nature et concentration moléculaire de l'effecteur	mg de glycocyamine p. 100 ml présents aux temps suivants de l'expérience			
	0 h	9 h	12 h	24 h
Néant (témoin)	88.6	50.0	20.0	5.2
$\text{SO}_4\text{Mn } 4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	86.2	50.0	34.0	17.8
$2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	88.6	46.2	16.0	3.2
$1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	88.6	42.4	8.4	0
$5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	88.6	38.6	16.0	5.8
$\text{SO}_4\text{Fe } 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	86.2	44.4	18.4	8.4
Néant (témoin)	92.6	48.6	25.0	0
<i>l</i> . Cystéine $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	88.6	38.8	12.5	0
<i>l</i> . Cystéine $2 \cdot 10^{-3} \text{ M} + \text{SO}_4\text{Mn } 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	85.0	14.2	0	0
Néant (témoin)	103.6	88.6	43.8	0
Diéthyldithiocarbamate de Na $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	103.6	103.6	102.0	60.0
$1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	102.0	102.0	78.6	42.4
$2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	102.0	76.4	16.2	0
Néant (témoin)	90.0	43.6	2.4	0
KCN $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	90.0	90.2	90.2	90.0
$2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	90.0	90.0	88.6	66.2
$1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	90.0	76.2	48.3	21.2
Néant (témoin)	90.0	2.5	0	0
Azide de sodium $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	93.6	43.6	11.2	0
$1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	92.4	36.2	2.5	0
$2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	92.4	16.0	0	0

Les ions Fe^{++} et Mn^{++} activent la dégradation de la glycocyamine et la cystéine renforce l'efficacité du second; Mg^{++} s'est montré sans action même en présence de cystéine. Par contre, les formateurs de complexe étudiés sont inhibiteurs à des degrés divers lorsque leur concentration atteint un certain taux. L'action de Mn^{++} présente

un optimum pour SO_4Mn 1.10^{-3} M et le diéthyldithiocarbamate de sodium à très faible concentration (2.10^{-4} M) favorise l'hydrolyse du substrat, sans doute par une anti-inhibition due à l'élimination de traces d'un inhibiteur métallique (Cu^{++} , Zn^{++}). Ces faits orientent l'attention vers la participation d'un métal à la constitution de la déguanidase. Toutefois, l'action des effecteurs étudiés peut n'être qu'indirecte et tenir à une inhibition du développement bactérien.

Spécificité de l'action glycocyaminasique

La glycocyamine n'est pas le seul dérivé guanidique hydrolysé par les bactéries du sol et de la putréfaction, lesquelles sont susceptibles de métaboliser selon diverses modalités les corps de ce type. Nous avons étudié l'action de *Pseudomonas ovalis* sur quelques-uns de ceux-ci et suivi leur dégradation par leur dosage et par celui de l'urée et de l'ammoniac, afin de préciser la réaction évoluant dans les milieux de culture de ce micro-organisme dépourvu d'uréase. Il était possible que divers substrats soient dégradés par une glycocyaminase analogue dans son action à celle de l'arginase, tandis que d'autres le seraient par l'arginidihydrolase, selon le schéma:



Les premiers devraient alors donner naissance à de l'urée — et, accessoirement, à de l'ammoniac par la réaction (2) indépendante de (1) —, les seconds uniquement à de l'ammoniac (3). On trouvera dans le Tableau III un résumé des résultats obtenus à $\text{pH} = 7.8-8.0$.

TABLEAU III
SPÉCIFICITÉ DE L'ACTION DE *Pseudomonas ovalis* SUR DIVERS DÉRIVÉS GUANIDIQUES

Substrat	Nombre de molécules d'urée (a) et d'ammoniac (b) formées par molécule de dérivé guanidique disparue	
	(a) urée	(b) ammoniac
Guanidine (carbonate)	o (non attaqué)	o
Glycocyamine	i	i
Glycocyamidine	o	o
Créatine	i	o
Créatinine	o	o
<i>l</i> -Arginine	o	2
Agmatine	o	2
Acide <i>l</i> -arginique	o	2
Acides α -guanidopropionique	o	o
„ „ α -guanido- β -hydroxypropionique	o	o
„ „ α -guanido β -phénylpropionique	o	o
„ „ β -guanido α -hydroxypropionique	o	o
Disulfure de l'acide α -guanido- β -thiopropionique	o	o

Parmi les dérivés étudiés, la glycocyamine et la créatine conduisent à la formation d'urée. La seconde est décomposée avec une vitesse beaucoup plus faible et ne libère que des traces d'ammoniac. Ce dernier fait peut être dû à la difficulté d'utilisation de la sarcosine — comparativement à celle du glycocolle — par la bactérie, laquelle réalise dans un premier temps l'hydrolyse du groupement guanidique de la glycocyamine et de la créatine, puis dégrade le glycocolle ou la sarcosine formés aux dépens de celles-ci. La glyco-

cyamidine et la créatinine demeurent inaltérées dans les conditions où nous nous sommes placés et il en est de même de divers acides α -ou β -guanidiques isologues d'acides aminés (α - et β -alanine, sérine, isosérine, cystine, phénylalanine). L'arginine, l'agmatine et l'acide arginique le sont, par contre, mais selon un mécanisme qui leur est particulier, puisque leur groupement guanidique disparaît en donnant directement naissance à de l'ammoniac, dans la proportion de deux molécules de celui-ci par molécule de substrat. C'est là le caractère de l'activité ammoniogène de l'argininedihydrolase⁸, alors que l'hydrolyse de la glycocyamine et celle, plus faible, de la créatine s'opèrent selon la réaction uréogène¹ indiquée plus haut. Ces observations apportent, par ailleurs, une contribution à l'étude de la spécificité de l'argininedihydrolase sur laquelle nous reviendrons prochainement. Il n'avait pas en effet été observé que cet enzyme est très actif sur l'acide arginique et sur l'agmatine comme sur l'arginine, alors que l'arginase n'hydrolyse pratiquement pas l'agmatine⁹.

L'action glycocyaminasique est non seulement d'une spécificité assez étroite, mais sa répartition dans les bactéries paraît très limitée. Nous ne l'avons pas observée dans les cultures de *Pseudomonas aeruginosa* de *Ps. putida migula*, de *Bacillus megatherium*, de *B. globigii*, de *B. subtilis*, de *B. coli* et de *Staphylococcus aureus*^{*}.

IV. DISCUSSION DES RÉSULTATS

Les faits résumés dans les paragraphes précédents méritent d'être brièvement discutés en ce qui concerne l'individualité de la glycocyaminase de *Pseudomonas ovalis* en tant que déguanidase et l'équipement des bactéries en enzymes de ce groupe.

La glycocyamine et la créatine étant les seuls substrats étudiés générateurs d'urée, l'existence d'une déguanidase spécifique de ces corps doit être envisagée. Il est légitime de la désigner sous le nom de *glycocyaminase* pour les raisons suivantes. D'une part, l'acide guanidoacétique est de beaucoup le substrat qu'elle hydrolyse le plus facilement, la créatine étant très résistante à son action. D'autre part, celle-ci ne s'exerce pas sur des substrats tels que l'arginine et l'acide arginique, qui ne sont pas générateurs d'urée en présence de la bactérie, mais le sont sous l'action de l'arginase. Cette dernière est, par ailleurs, inefficace, comme l'enzyme bactérien, vis-à-vis de certains acides guanidiques isologues d'acides aminés naturels (alanine et dérivés¹⁰). Il existe donc deux déguanidases dédoublant des guanidines monosubstituées selon la même réaction, mais différant par leur spécificité de substrat, l'arginase et la glycocyaminase. Cette dernière paraît strictement bactérienne, tandis que la première est présente dans de nombreux tissus animaux et végétaux. Il est prématûr de discuter dans quelle mesure la glycocyaminase est, comme l'arginase, un enzyme à métal dissociable, car sa purification n'a pas pu être réalisée; néanmoins, l'action des ions Mn^{++} et Fe^{++} et celle des formateurs de complexes sur son pouvoir hydrolytique rend cette manière de voir vraisemblable.

La diversité de l'équipement enzymatique des bactéries en déguanidases apparaît comme très grande. Ainsi que l'ont fait remarquer HILLS⁸, NIVEN, SMILEY ET SHERMANN⁹, la présence d'arginase chez elles est hypothétique, les travaux l'ayant signalée reposant sur l'observation de la disparition de l'arginine et non sur celle de la formation d'urée. En revanche, l'existence de l'argininedihydrolase a été établie chez de nombreux sta-

* Souches provenant de l'Institut Pasteur (Paris) ou du Laboratoire du Dr. RANQUE (Marseille). Nous remercions les Directeurs des organismes qui ont bien voulu nous fournir ces bactéries.

phylocoques, hémolytiques ou non, et chez diverses bactéries à Gram positif et nous l'avons constatée chez *Pseudomonas ovalis*, lequel renferme également la glycocyaminase. Celle-ci est absente de *Pseudomonas aeruginosa* et de *S. putida* et une variété des premiers renfermerait une déguanidase plus active sur la créatine que sur la glycocyamine⁷. D'autres bactéries du sol adaptées à la créatinine la dégradent en libérant de l'urée⁸. Enfin, la guanidodésimidase^{10, 11} constitue un autre type de déguanidase dont la répartition précise dans diverses espèces n'a pas été étudiée*. Des bactéries voisines présentent donc un équipement enzymatique très différent en ce qui concerne leur système déguanidique; aussi l'étude de celui-ci présente-t-elle un intérêt en ce qui concerne la caractérisation des espèces comme la spécificité enzymatique.

RÉSUMÉ

1. Après une étude préliminaire de l'action des bactéries du sol et de la putréfaction sur la glycocyamine, on a isolé de la terre de jardin une bactérie identique à *Pseudomonas ovalis* CHESTER décomposant la glycocyamine au pH optimum = 8.0-8.5.

2. *Ps. ovalis* hydrolyse la glycocyamine et, beaucoup plus lentement, la créatine en donnant naissance à de l'urée; il décompose l'arginine et l'acide arginique en produisant directement de l'ammoniac et ne renferme pas d'uréase. La première réaction est opérée par une *glycocyaminase* spécifique, inactive sur des substrats de l'arginase, tandis que la seconde est catalysée par *l'argininedihydrolase*, déguanidase d'un autre type. L'argininedihydrolase décompose l'agmatine, corps pratiquement insensible à l'arginase hépatique. La glycocyamidine, la créatinine et divers acides α - ou β -guanidiques ne sont hydrolysés ni par l'un ni par l'autre enzyme bactérien.

3. La glycocyaminase est activée par Mn⁺⁺ et Fe⁺⁺, surtout en présence de cystéine et inhibée par divers corps susceptibles de former des complexes avec les métaux. Il est possible qu'elle soit, comme l'arginase, un enzyme à métal dissociable.

SUMMARY

1. After a preliminary study of the action of soil and putrefaction bacteria on glycocyamine, we have isolated from garden earth a bacterium identical with *Pseudomonas ovalis* CHESTER, decomposing glycocyamine at an optimal pH of 8.0-8.5.

2. *Ps. ovalis* hydrolyses glycocyamine and, much more slowly, creatine to give urea; it decomposes arginine and arginic acid with the direct production of ammonia. The first reaction is brought about by a specific *glycocyaminase* inactive on arginase substrates, while the second is catalysed by *argininedihydrolase*, a deguanidase of another type. Argininedihydrolase decomposes agmatine, a substance that is practically insensitive to liver arginase. Glycocyamidine, creatinine and various α - or β -guanidic acids are not hydrolysed by either bacterial enzyme.

3. Glycocyaminase is activated by Mn⁺⁺ and Fe⁺⁺, especially in the presence of cysteine and is inhibited by various substances capable of forming metal complexes. It is possible that, like arginase it is an enzyme with dissociable metal atoms.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Nach vorläufigen Untersuchungen über die Wirkung der Boden- und Fäulnisbakterien auf Glycocyamin wurde aus Gartenerde eine Bakterie isoliert, die mit *Pseudomonas ovalis* CHESTER identisch ist und Glycocyamin bei einem pH-Optimum von 8.0-8.5 aufspaltet.

2. *Ps. ovalis* hydrolysiert Glycocyamin und viel langsamer Kreatin, wobei Harnstoff entsteht; es spaltet Arginin und Argininsäure unter direkter Ammoniakbildung und enthält keine Urease. Die erste Reaktion wird durch eine spezifische Glycocyaminase bewirkt, die auf Substrate der Arginase wirkungslos ist, während die zweite durch eine andere Deguanidase, die Argininedihydrolase, katalysiert wird. Die Argininedihydrolase spaltet das Agmatin, auf das die Leberarginase beinahe keine Wirkung hat. Glycocyamidin, Kreatinin und verschiedene α - oder β -Guanidinderivate werden weder durch das eine, noch durch das andere Bakterienenzym gespalten.

3. Die Glycocyaminase wird durch Mn⁺⁺ und Fe⁺⁺ aktiviert, vor allem bei Anwesenheit von Cystein, und wird durch verschiedene Stoffe, die mit den genannten Metallen Komplexe bilden können, gehemmt. Es ist möglich, dass sie, wie die Arginase, ein Enzym mit dissoziierbarem Metall sei.

* La dégradation de la méthylguanidine et de certains acides α -guanidiques par les bactéries du sol non sélectionnées (p. 414) et l'inactivité de *Ps. ovalis* sur les mêmes corps est probablement due à l'action guanidodésimidase des premières.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 J. W. DUBNOFF ET H. BORSOOK, *J. biol. Chem.*, 138 (1941) 389.
- 2 J. KARASHIMA, *Z. physiol. Chem.*, 127 (1928) 42.
- 3 K. FELIX ET H. SCHNEIDER, *Z. physiol. Chem.*, 255 (1938) 132.
- 4 H. D. DAKIN, *J. biol. Chem.*, 3 (1907) 435.
- 5 M. MOURGUE ET G. LACOMBE, *Compt. rend. soc. biol.*, 140 (1946) 626.
- 6 R. DUBOS ET B. F. MILLER, *J. biol. Chem.*, 121 (1937) 429.
- 7 P. H. KEPPEL ET H. H. BEARD, *Arch. Biochem.*, 15 (1947) 195.
- 8 G. M. HILLS, *Biochem. J.*, 34 (1940) 1057.
- 9 C. F. NIVEN, K. L. SMILEY ET J. M. SHERMANN, *J. Bact.*, 43 (1941) 651.
- 10 D. ACKERMANN, *Z. physiol. Chem.*, 203 (1931) 66.
- 11 F. LINNEWEH, *Z. physiol. Chem.*, 200 (1930) 115; *Ibid.*, 202 (1931) 1; *Ibid.*, 205 (1932) 126; *Ibid.*, 207 (1932) 152.
- 12 J. ROCHE (Revue générale sur l'arginase et les déguanidases). *Exp. ann. Biochim. med.*, 10 (1948) sous presse.
- 13 C. DUMAZERT ET R. POGGI, *Bull. soc. chim. biol.*, 21 (1939) 1381.
- 14 L. THIVOLLE ET G. SONNTAG, *Bull. soc. chim. biol. (Trav.)*, 23 (1941) 1302.
- 15 M. MOURGUE, *Bull. soc. chim.*, La société ne donne plus d'indication de tomaison (1948) 181.
- 16 K. FELIX ET M. MULLER, *Z. physiol. Chem.*, 174 (1928) 112.
- 17 S. WINOGRADSKY, *Ann. Inst. Pasteur*, 48 (1932) 89.
- 18 BERGEY'S *Manual of determination Bacteriology*, 6ème ed., (1948) pp. 66-67, 82-84 et p. 97 (no. 24).
- 19 J. ROCHE ET M. MOURGUE, *Bull. soc. chim. biol.*, 29 (1947) 889.

Reçu le 14 juin 1948