

plus forte, tantôt égale à celle des amibes nucléées, confirmant donc le résultat obtenu dans le cas des amibes intactes.

Il est difficile de donner dès à présent une explication satisfaisante de l'augmentation d'activité que l'on trouve dans les fragments énucléés dans les premiers jours après l'énucléation. On pourrait penser que l'absence du noyau provoque une libération d'enzyme comme le broyage mécanique; toutefois, cette libération n'a pas lieu dans les amibes cytolysées par le froid.

On peut conclure, d'après les recherches que nous avons effectuées sur la dipeptidase, la protéinase et l'amylase que le noyau exerce sur ces enzymes un contrôle éloigné (BRACHET³) et que, en l'absence du noyau, les enzymes restent longtemps actifs et capables d'agir sur leurs substrats.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ J. BRACHET, *Nature*, 168 (1951) 205.
- ² N. LINET ET J. BRACHET, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 607.
- ³ J. BRACHET, *Actualités Biochimiques*, 16 (1952) Ed. Masson & Desoer.
- ⁴ E. URBANI, *Arch. Intern. Physiol.*, 60 (1952).
- ⁵ H. HOLTER ET S. LÖVTRUP, *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg*, 27 (1949) 27.
- ⁶ H. HOLTER ET W. L. DOYLE, *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg*, 22 (1938) 219.

Reçu le 24 mai 1952

EXTRÉMITÉS N-TERMINALES DE LA PROTÉINE DE L' α -CHYMOTRYPSINE

par

P. DESNUELLE, M. ROVERY ET C. FABRE

Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté des Sciences, Marseille (France)

Dans un précédent travail¹, nous avons appliqué la technique de SANGER au chymotrypsinogène et à l' α -chymotrypsine cristallisée. Le chymotrypsinogène semble dépourvu de fonctions α -NH₂ libres. Dans les cristaux d' α -chymotrypsine au contraire, on rencontre une série de résidus N-terminaux. Les uns (alanine, isoleucine) s'y trouvent en proportions à peu près stoechiométriques (environ 1 résidu pour 21,500 g). Tous les autres s'y trouvent en proportions notablement plus faibles. Les cristaux d' α -chymotrypsine sont donc probablement constitués, non par une protéine pure comme on aurait pu le penser, mais par un mélange d'une protéine et de peptides (ou aminoacides). Ces derniers sont si fortement ancrés à la protéine que ni les cristallisations ni même la précipitation trichloracétique ne réussissent à les éliminer.

Nous avons trouvé que la séparation de la protéine et des peptides (aminoacides) peut être réalisée de deux façons différentes. En épuisant longuement à l'eau, à l'alcool et à l'éther, la DNP- α -chymotrypsine, on extrait une partie des DNP-peptides (ou aminoacides). Simultanément, la substance insoluble (qui contient la DNP-protéine) perd quelques-uns de ses résidus N- α -terminaux non-stoechiométriques mais conserve son alanine et son isoleucine. D'autre part, deux cristallisations² de la diisopropylphospho- α -chymotrypsine (enzyme inhibé par 1 mol de diisopropylfluorophosphate) permettent également, comme l'a déjà noté JANSEN³ de réaliser une excellente purification. En combinant les deux traitements, on obtient une substance contenant uniquement 0.8-0.9 résidus d'alanine et de isoleucine pour 21,500 g*.

Ces résultats suggèrent que la protéine des cristaux d' α -chymotrypsine possède deux chaînes peptidiques ouvertes. Elle est donc vraisemblablement engendrée par l'ouverture de deux liaisons peptidiques au sein du chymotrypsinogène**.

Des expériences sont actuellement en cours pour savoir si cette protéine, une fois débarrassée de ses peptides (ou aminoacides), possède encore une activité enzymatique.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ P. DESNUELLE, M. ROVERY ET C. FABRE, *Compt. rend.*, 233 (1951) 1496.
- ² E. F. JANSEN, M. D. F. NUTTING, R. JANG ET A. K. BALLS, *J. Biol. Chem.*, 179 (1949) 189.
- ³ E. F. JANSEN, M. D. F. NUTTING, R. JANG ET A. K. BALLS, *J. Biol. Chem.*, 185 (1950) 209.
- ⁴ *Crystalline Enzymes*, Columbia University Press, New York 1948, page 111.

Reçu le 29 avril 1952

* Ainsi que 0.2 résidu N-terminal de phénylalanine.

** Ce résultat est en accord avec la formol-titration (4 liaisons rompues pour 36,000 g).