

L'ORDRE D'ENCHAÎNEMENT DE QUELQUES ACIDES AMINÉS DANS LA VASOPRESSINE DE BOEUF*

par

ROGER ACHER, JACQUELINE CHAUVET ET PIERRE FROMAGEOT

Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté des Sciences, Paris (France)

La vasopressine de boeuf contient par molécule un résidu de chacun des acides aminés suivants: Cys, Arg, Gly, Asp, Glu, Pro, Tyr et Phé¹. La vasopressine que nous avons préparée² titre de 500 à 1000 U.I./mg (activité mesurée sur le rat et calculée d'après la teneur en arginine). La pureté du produit a été contrôlée par chromatographie sur papier dans trois solvants différents, et par électrophorèse sur papier à pH 4 (colonne 2, Tableau I). Dans tous ces essais la vasopressine se comporte comme une substance unique ne donnant de coloration ni avec la ninhydrine, ni avec le par-aminobenzaldéhyde³ (absence de tryptophane) mais réagissant avec les réactifs spécifiques de l'arginine (SAKAGUCHI), de la cystine (iodoplatinate)⁴ et de la tyrosine (α -nitroso- β -naphтол). La composition en acides aminés déterminée après hydrolyse avec HCl 5.7 N et chromatographie sur papier (colonne 4, Tableau I) est identique à celle trouvée par les auteurs américains¹. Après une hydrolyse de 3 heures avec HCl 2 N nous n'avons pu mettre en évidence aucun sucre réducteur par la réaction à la benzidine⁵.

Environ 10 mg de vasopressine pure sont dissous dans 1 ml de HCl 11.2 N et hydrolysés à 37° en tube scellé sous vide, pendant 4 jours. L'acide chlorhydrique est éliminé d'abord par évaporations répétées sous vide, puis par extraction avec une solution chloroformique à 5 % de di-2-éthylhexylamine. La solution à pH 6.8 est alors passée sur une colonne de 1 g de silice (diamètre 5 mm) pour retenir les peptides basiques⁶; l'élution de ces derniers est effectuée avec HCl 0.1 N. La fraction basique est chromatographiée pendant 48 heures sur papier Whatman No. 1 dans le solvant I. La réaction de SAKAGUCHI permet de révéler 5 taches A₁ à A₅ par ordre de R_F croissants, la tache A₂ étant au niveau de la tache correspondant à l'arginine libre; la réaction à la ninhydrine ne révèle en violet que la tache A₂, mais la réaction à l'isatine⁷ révèle en bleu les taches A₂, A₃, A₄, A₅, indiquant ainsi quatre prolyl-peptides⁸. La composition des différents peptides, établie dans trois solvants convenablement choisis (colonne 5, Tableau I), est donnée par le Tableau I.

TABLEAU I

Les chiffres correspondant à l'arginine représentent les distances, en cm, parcourues par cet acide aminé au cours des chromatographies ou de l'électrophorèse.

Les chiffres correspondant aux peptides sont les rapports des distances parcourues par ces peptides à celles parcourues par l'arginine.

Solvants: I. Butanol 75 + ac. formique 15 + eau 10; II. Pyridine 60 + collidine 20 + eau 20; III. Phénol saturé de solution tampon citrate-phosphate 0.067 M à pH 4; IV. Phénol saturé de solution tampon phosphate-soude à pH 12; V. Phénol saturé d'eau en atmosphère de NH₃; VI. Phénol saturé de solution tampon KCl-HCl à pH 2.

E Electrophorèse sur papier en solution tampon citrate-phosphate 0.05 M à pH 4.

(1)	(2)				(3)	(4)	(5)
Peptides	Mode de séparation				Acide aminé initial	Composition en acides aminés	Solvants
	Solvants			E			
	I	II	III				
Arginine	4.5	11.5	7.5	6.0	—	—	—
Vasopressine	0.2	3.0	3.3	0.5	—	Cys, Arg, Gly, Glu Asp, Pro, Tyr, Phé	I, V
A ₂	1.0	1.7	3.5	0.9	Pro	Pro·(Arg, Gly)	I, II, V
A ₃	1.5	1.8	4.0	0.9	Pro	Pro·Arg	I, II, VI
A ₄	2.0	—	—	—	Pro	Pro·(Arg, Gly, Glu)	I, IV, VI
A ₅	3.0	—	—	—	Pro	Pro·(Arg, Gly, Glu)	I, II, VI

* Nous sommes heureux de remercier la Fondation Rockefeller de l'aide matérielle qu'elle a apportée à l'exécution de ce travail.

Dans le cas du peptide A₃ (Pro·Arg) la position initiale de la proline a été confirmée par la technique de SANGER⁹. L'hydrolyse partielle du tripeptide A₂ (Pro·Arg·Gly) réalisée dans les mêmes conditions (4 jours, 37°, HCl 11.2 N) permet d'isoler à côté de la proline, de l'arginine et de la glycine libres, le dipeptide A₃ (Pro·Arg). Enfin, les tétrapeptides A₄ et A₅ contenant Pro, Arg, Gly, Glu, avec la proline en position initiale, donnent l'enchaînement Pro·Arg·Gly·Glu, enchaînement confirmé par l'isolement dans le filtrat de la silice d'un dipeptide contenant Gly et Glu. Le fait que l'on ait affaire à deux tétrapeptides de même composition en acides aminés et pourtant de comportements différents peut s'expliquer par l'état différent du résidu glutamique, susceptible, par exemple, de porter encore un groupe amidé.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ R. A. TURNER, J. G. PIERCE ET V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.*, 191 (1951) 21.
- ² P. FROMAGEOT, H. CLAUSER ET H. MAIER-HÜSER, *Biochim. Biophys. Acta*, (sous presse).
- ³ J. TABONE, D. ROBERT, S. THOMASSEY ET N. MAMOUNAS, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 32 (1950) 529.
- ⁴ G. TOENNIES ET J. J. KOLB, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 823.
- ⁵ R. H. HORROCKS, *Nature*, 164 (1949) 44.
- ⁶ R. ACHER, M. JUTISZ ET C. FROMAGEOT, *Biochim. Biophys. Acta*, 8 (1952) 442.
- ⁷ R. ACHER, M. JUTISZ ET C. FROMAGEOT, *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 81.
- ⁸ W. GRASSMAN ET K. V. ARNIM, *Ann.*, 519 (1938) 192.
- ⁹ F. SANGER, *Biochem. J.*, 39 (1945) 507.
- ¹⁰ E. F. MCFARREN, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 168.

Reçu le 3 septembre 1952

BOOK REVIEW

Bioluminescence. By E. NEWTON HARVEY. Academic Press Inc., New York, 1952. xvi + 649 pp. 187 ill. Price, \$ 13.00.

In this book, Prof. HARVEY has made an attempt to compile all available knowledge concerning the production of light by living organisms. To quote from the preface, it intends to be: "—a comprehensive monograph of the reference type. . . . a complete guide to knowledge on the subject". The groups of luminous organisms have been presented in phylogenetic order, discussing luminous species, morphology, histology, physiology, biochemistry and biophysics of the light-producing structures.

In performing this most difficult task, Prof. HARVEY has rendered a very great service to all interested in the subject. The literature on bioluminescence is scattered, sometimes difficultly available, often uncritical. This book will be, therefore, an invaluable source of reference. It certainly deserves a much wider circle of readers than the relatively small group of specialists, however. It clearly exposes the astonishingly fragmentary nature of our knowledge of the occurrence of luminous forms. May it therefore also be a stimulus to the general biologist to resume or continue observation in this fascinating field.

The literature from 1800–1950 has been covered with great care. The bibliography occupies 76 pages, containing some 1800 references.

Notwithstanding the fact that some important advances have been made in recent years, the biochemistry of luminescence is still in need of enlightenment. This is chiefly a consequence of the fact that sufficient and suitable material is seldom available. Prof. HARVEY's book makes it nevertheless clear that important fundamental biochemical observations on various groups of luminescent organisms could still be made by the occasional observer with the aid of relatively simple techniques.

The literature on bioluminescence is overburdened with conflicting observations, opinions and theories. The time has not yet arrived when it will be possible to separate the useful from the valueless. In the reviewer's opinion, it could nevertheless have been possible for the author to adopt a more critical attitude towards many older interpretations of experimental results, which have since lost their basis as a consequence of more recent findings. To give only one example, the quantum yield for light production in luminous bacteria, quoted on page 95, certainly is without significance.

The appearance of the book is of a high standard, but there are many printing errors.

C. J. P. SPRUIT (Wageningen)