

## La formation de l'acide cystéinesulfinique à partir de la cystine chez le rat

L'acide cystéinesulfinique est considéré comme un intermédiaire dans les réactions conduisant, chez les animaux supérieurs, de la cystine ou de la cystéine aux sulfates et à la taurine. Cette manière de voir repose, d'une part sur le fait que la cystine est facilement réduite en cystéine dans l'organisme et sur les résultats de mesures de l'oxygène consommé lorsque de la cystéine est placée dans des conditions convenables en présence de foie<sup>1</sup>, et d'autre part sur le fait que l'acide cystéinesulfinique donne rapidement naissance, au contact de divers systèmes biologiques, aux sulfates, à l'hypotaurine et à la taurine, comme le font la cystéine et la cystine<sup>2,3</sup>. Mais aucune démonstration directe de la transformation de la cystine en acide cystéine-sulfénique n'avait encore été donnée. La présente note établit qu'à la suite de l'injection de cystine <sup>35</sup>S au rat, on peut caractériser dans ses organes de l'acide cystéinesulfinique <sup>35</sup>S.

Un rat âgé de sept semaines et pesant 125 g reçoit par injection lente (5 min) 30 mg de cystine <sup>35</sup>S sous forme de chlorhydrate. La radioactivité du produit injecté est de 20  $\mu$ c. Après quinze minutes, on sacrifice l'animal et prélève le foie et les reins. Ces tissus sont broyés ensemble dans 200 ml d'alcool à 80°. On ajoute 1 mg d'acide cystéinesulfinique ordinaire comme entraîneur. La suspension alcoolique est traitée selon la technique d'AWAPARA<sup>4</sup>, qui permet d'obtenir les acides aminés libres des tissus étudiés, en solution aqueuse déprotéinisée. On concentre cette solution à 2 ml. On l'analyse d'une part telle quelle, et, d'autre part, après purification sur colonne de permutite<sup>5</sup>.

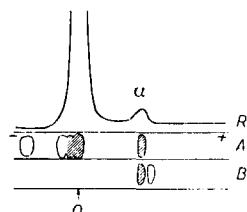


Fig. 1. Ionophorèse sur papier de l'extrait aqueux. pH: 2.7; 6.7 volts/cm; durée 5 heures; papier Whatman No. 4; quantité déposée 30  $\mu$ l. A, extrait aqueux; B, témoin: acide cystéinesulfinique + acide cystéique; R, enregistrement de la radioactivité; O, point de départ. Les hachures indiquent le pouvoir réducteur des taches à l'égard de l'iodoplatinate.  $\alpha$  acide cystéinesulfinique.

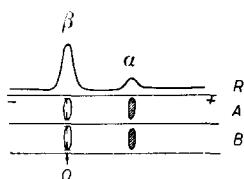


Fig. 2. Ionophorèse sur papier du filtrat de la colonne de permutite. Mêmes conditions que dans la Fig. 1;  $\alpha$  acide cystéinesulfinique;  $\beta$  taurine.

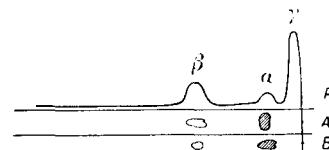


Fig. 3. Chromatographie dans le phénol + eau (80:20) du filtrat de la permutite. A, extrait aqueux; B, témoin: acide cystéinesulfinique + acide cystéique; R, enregistrement de la radioactivité.  $\alpha$  acide cystéinesulfinique;  $\beta$  taurine;  $\gamma$  sulfates.

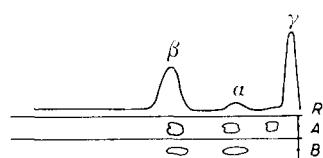


Fig. 4. Chromatographie dans la lutidine + alcool + eau (55:25:20) du filtrat de la permutite. A, extrait aqueux; B, témoin: acide cystéinesulfinique + acide cystéique; R, enregistrement de la radioactivité.  $\alpha$  acide cystéinesulfinique;  $\beta$  taurine;  $\gamma$  sulfates.

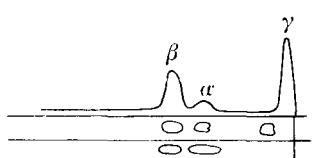


Fig. 5. Chromatographie dans la lutidine - alcool + eau (55:25:20) du filtrat de la permutite après oxydation. A, filtrat; B, témoin: acide cystéique + taurine; R, enregistrement de la radioactivité.  $\alpha'$  acide cystéique;  $\beta$  taurine.

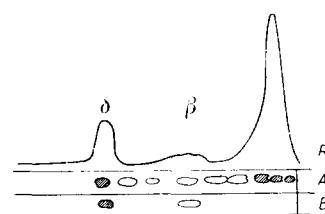


Fig. 6. Chromatographie dans le phénol + eau de l'extrait aqueux. A, extrait aqueux; B, témoin: taurine + hypotaurine; R, enregistrement de la radioactivité.  $\beta$  taurine;  $\delta$  hypotaurine.

L'acide cystéinesulfinique est caractérisé dans l'extrait aqueux: (1) Par ionophorèse sur papier, dans les conditions indiquées dans la Fig. 1; on observe une seule substance migrant vers l'anode à pH 2.7 réagissant à la ninhydrine et à l'iodoplatinate, et radioactive. Sa position correspond à celle de l'acide cystéinesulfinique témoin. (2) Par ionophorèse du filtrat de la colonne de permutite:

la Fig. 2 montre la présence d'acide cystéinesulfinique et de taurine. (3) Par chromatographie sur papier du filtrat de la colonne de permutite: dans le phénol (Fig. 3) on observe que la radioactivité se distribue en trois taches: l'une correspondant aux ions sulfates ( $\gamma$ ), les deux autres à la taurine ( $\beta$ ) et à l'acide cystéinesulfinique ( $\alpha$ ), caractérisé comme ci-dessus. Dans la lutidine, on note la présence de l'acide cystéinesulfinique, de la taurine et de sulfates. Après oxydation par l'acide performique<sup>6</sup> du filtrat de la permute, la chromatographie dans la lutidine (Fig. 5) montre que la tache correspondant à l'acide cystéinesulfinique a disparu; on constate en revanche la présence d'acide cystéique radioactif.

La formation d'acide cystéinesulfinique à partir de la cystine est ainsi nettement démontrée. Dans des expériences analogues, AWAPARA<sup>7</sup> n'avait pas réussi à mettre en évidence la formation de cet acide.

Il est à remarquer que par chromatographie de l'extrait aqueux non purifié sur permutite (Fig. 6), on met en évidence une importante formation d'hypotaurine ( $\delta$ ). Par rapport à la radioactivité totale de l'extrait aqueux, la tache d'hypotaurine représente une radioactivité de 25%, celle de l'acide cystéinesulfinique correspondant à environ 1%. La faible quantité d'acide cystéinesulfinique retrouvée indique sa grande réactivité chimique, et sa transformation rapide en hypotaurine. Le fait de ne pas avoir décelé d'acide cystéique confirme que la taurine prend naissance essentiellement par oxydation de l'hypotaurine et non par décarboxylation de l'acide cystéique.

Service de Biologie du Commissariat à l'Energie Atomique,  
Fort de Châtillon, Seine (France)

FRANÇOIS CHAPEVILLE  
PIERRE FROMAGEOT

<sup>1</sup> N. W. PIRIE, *Biochem. J.*, 28 (1934) 305.

<sup>2</sup> G. MEDES, *Biochem. J.*, 33 (1939) 559.

<sup>3</sup> F. CHATAGNER ET B. BERGERET, *Compt. rend.*, 232 (1951) 448.

<sup>4</sup> J. AWAPARA, *Arch. Biochem.*, 19 (1948) 172.

<sup>5</sup> H. TABECHIAN, B. BERGERET ET F. CHATAGNER, *Bull. soc. chim. biol.*, 35 (1953) 615.

<sup>6</sup> J. M. MÜLLER, J. G. PIERCE, H. DAVOLL ET V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.*, 191 (1951) 309.

<sup>7</sup> J. AWAPARA ET W. J. WINGO, *J. Biol. Chem.*, 203 (1953) 189.

Reçu le 26 mars 1955

## Reifung von Retikulozyten *in vitro*

Im Rahmen unserer Untersuchungen über die Reifungsvorgänge in Retikulozyten befassten wir uns mit Versuchen, optimale Bedingungen für die Reifung *in vitro* zu finden. Wir stellten fest, dass eine anorganische Nährlösung, die 50 mg Glukose und 5 mg Aminosäuren/100 ml enthält, einen starken Abfall der Retikulozytentanzahl von Kaninchenblut innerhalb einer Inkubationsperiode von 24 Stunden bewirkt.

Fast dieselbe Reifung wird erzielt, wenn anstelle eines Aminosäurengemisches 1-Valin zugesetzt wird. Eine, wenn auch bedeutend geringere Reifung tritt nur noch mit Isoleucin auf.

Ohne Aminosäuren findet keine Reifung statt. Auch Serum ist als Reifungsmedium unwirksam. In reiner Sauerstoffatmosphäre tritt Hämolyse ein, während in einer Stickstoffatmosphäre keine Reifung beobachtet wird. Glukosemangel führt zu Hämolyse, während ein Überschuss die Reifung hemmt.

In Tabelle I ist ein repräsentativer Versuch gezeigt.

TABELLE I

Die Zahlen geben den Prozentsatz der Retikulozyten an.

| Ausgangswert | Anorg. Lös.     | Anorg. Lös.                          | Anorg. Lös.             |
|--------------|-----------------|--------------------------------------|-------------------------|
|              | 50 mg % Glukose | 50 mg % Glukose + Aminosäurengemisch | 50 mg % Glukose + Valin |
| %            | %               | %                                    | %                       |
| 31.2         | 29.1            | 16.7                                 | 18.5                    |

Physiologisch-chemisches Institut der Humboldt-Universität,  
Berlin (Deutschland)

S. RAPOORT  
W. L. STRASSNER

Eingegangen am 1. April 1955