

violet absorption in alkaline solution reveals the presence of one mole of both tryptophane and tyrosine. No sulphur-containing amino acid residues have been found to be present.

When comparing the data of LERNER AND LEE with ours, the following striking differences are encountered: The isoelectric point of our peptide is about pH 5 as compared with pH 10.5-11 and is devoid of cystine, leucine and threonine. It is difficult to compare the potencies of the two preparations since they were assayed differently. We assayed our material according to the method of LANDGREBE AND WARING³ to an accuracy of 10 % against a standard material. LERNER AND LEE, on the other hand, used a much less accurate method of assay based on the response of isolated frog skin. Methods of this kind have been adequately criticised elsewhere^{7,8}.

A possible explanation of the divergence is, in our opinion, that LERNER AND LEE have isolated a basic aggregate of the active peptide and inert material. We have observed a basic component in the material eluted from oxycellulose, the isoelectric point of which appears to agree with that reported by LERNER AND LEE. As complete recovery was found when assaying material not including this component its activity was not determined.

A more detailed communication concerning the isolation and physical, chemical and biological properties of the peptide will be published later.

Institute of Biochemistry, University of Uppsala, (Sweden)

*Department of Pharmacology, Welsh National School of Medicine,
Cardiff (Wales)*

J. PORATH

P. ROOS

F. W. LANDGREBE

G. M. MITCHELL

¹ A. B. LERNER AND T. H. LEE, *J. Am. Chem. Soc.*, 77 (1955) 1066.

² F. W. LANDGREBE AND G. M. MITCHELL, *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 39 (1954) 11.

³ F. W. LANDGREBE AND H. WARING, *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 43 (1944) 1.

⁴ J. PORATH, *Acta Chem. Scand.*, 8 (1954) 1813.

⁵ P. FLODIN AND D. W. KUPKE, to be published.

⁶ H. KUNKEL AND A. TISELIUS, *J. Gen. Physiol.*, 35 (1951) 89.

⁷ F. W. LANDGREBE AND H. WARING, *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 31, 1941 31.

⁸ H. WARING AND F. W. LANDGREBE, *Hormones*, Vol. II. Academic Press, New York (1950).

Received May 24th, 1955

Influence de la ribonucléase sur la teneur en adénosinetriphosphate (ATP) et la consommation d'oxygène des amibes vivantes

Un travail récent de BRACHET² a montré qu'un traitement approprié à la ribonucléase (RNase) permet de faire varier, presque à volonté et dans le même sens, la teneur en acide ribonucléique (ARN) et l'incorporation des acides aminés dans les protéines, chez les amibes vivantes (*Amoeba proteus*). Nous avons cherché à voir si la RNase modifie la teneur en ATP et la consommation d'oxygène des amibes ainsi traitées, afin de préciser si l'enzyme n'altère pas l'anabolisme protéique en inhibant la production d'énergie.

L'ATP a été dosé suivant la technique de STREHLER⁷, dans les conditions décrites récemment par BRACHET^{3*}.

Nous avons fait agir la RNase cristallisée (G.B.I.) pendant des temps variables, en vérifiant chaque fois l'activité enzymatique des solutions par la méthode de KUNITZ⁵; la concentration était de l'ordre de 0.1 mg/ml. Les variations observées au cours de 8 séries d'expériences, pendant des temps allant de 15 à 18 h, ne sont pas très importantes: la différence entre les moyennes est de l'ordre de 25 % (Tableau I). Cependant, au bout d'une demi-heure à une heure, on peut noter une légère augmentation de la teneur en ATP, bientôt suivie d'une chute. Si on les remet dans leur milieu habituel (liquide de Chalkley) ou dans de l'ARN (Schwarz 1.4 mg/ml), les amibes retrouvent leur taux d'ATP normal.

TABLEAU I

TENEUR MOYENNE EN ATP (μ g/100 amibes) DES AMIBES NORMALES ET TRAITÉES À LA RNASE

Amibes normales	Amibes traitées par l'RNase								
	15'	½ h	¾ h	1 h	1 h ½	2 h	18 h	+Chalkley	+ ARN
0.175	0.186	0.196	0.220	0.205	0.172	0.170	0.165	0.183	0.177

* Toutes ces mesures ont été faites avec le concours du Dr. M. ERRERA auquel vont mes plus vifs remerciements.

La consommation d'oxygène a été mesurée à l'aide du ludion de LINDERSTRØM-LANG ET HOLTER⁶. Elle a été suivie sur des amibes témoins et traitées à la RNase, mises par groupes de 30 dans les ludions cylindriques déjà utilisés par BRACHET^{1,3}. Comme nous n'avons pas tenu compte des lectures de la première heure et que le remplissage des ludions est assez long, les premières mesures commençaient au bout d'1 heure $\frac{1}{2}$ à 2 heures d'action de la RNase. La concentration a été la même que précédemment.

Les résultats du Tableau II montrent que la RNase n'a pas d'effet massif sur la respiration: la moyenne est pratiquement identique dans le cas des amibes témoins et des traitées.

Néanmoins, dans les expériences de longue durée, on constate souvent au bout d'une heure $\frac{1}{2}$ à 2 h d'action de la RNase, une augmentation appréciable de la consommation d'oxygène (50 à 90 %), qui devient légèrement inférieure à la moyenne une heure plus tard.

Conclusions. Sans exercer d'effet massif, la RNase semble provoquer, au bout d'une heure, une augmentation sensible de la teneur en ATP, suivie d'une légère baisse. Au bout d'1 h $\frac{1}{2}$ à 2 h la consommation d'oxygène augmente aussi momentanément, pour diminuer ensuite. Ces résultats montrent que, comme dans le cas des racines d'oignon étudiées par BRACHET⁴, la RNase ne modifie pas profondément les mécanismes producteurs d'énergie dans les cellules traitées.

TABLEAU II
CONSOMMATION D'O₂ PAR AMIBE EN 10⁻³ μ l/h

Exp.	Amibes témoins	Amibes traitées
I	0.23	0.27
II	0.27	0.28
III	0.28	0.25
IV	0.28	0.27
V	0.26	0.24
VI	0.23	0.43
Moyenne	0.25	0.29

Y. ŠKREB-GUILCHER*

Laboratoire de Morphologie animale, Faculté des Sciences de
l'Université libre de Bruxelles (Belgique)

¹ J. BRACHET, *Nature*, 168 (1951) 205.

² J. BRACHET, *Nature*, 175 (1955) 851.

³ J. BRACHET, *Biochim. Biophys. Acta*, (sous presse).

⁴ J. BRACHET, *Nature*, 174 (1954) 876.

⁵ M. KUNITZ, *J. Biol. Chem.*, 164 (1946) 563.

⁶ K. LINDERSTRØM-LANG ET H. HOLTER, *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg*, 24 (1943) 334.

⁷ B. L. STREHLER ET J. R. TOTTER, *Arch. Biochem. Biophys.*, 40 (1952) 28.

Reçu le 17 mai 1955

* Boursière des accords culturels franco-belges. Adresse permanente: Institut de Zoologie, Université de Zagreb, Yougoslavie.

Blood group substance activity of intrinsic factor preparations

SPRINGER, ROSE AND GYÖRGY¹ have found that high blood group A, B and H substance activities were present in all of 8 highly purified intrinsic factor preparations. Furthermore, LATNER, MERRILLS AND RAINE² have reported that their intrinsic factor preparation possessed well-marked blood group substance activity, although ultracentrifuge experiments did not reveal the presence of the usual blood group substances.

In view of these facts we decided to test some of our intrinsic factor preparations for possible A, B and H antigen activity and to compare this with the clinical activity.

Intrinsic factor activity was ascertained by daily oral administration of the preparation together with cyanocobalamin (5–10 micrograms, mostly bound) to patients with pernicious anemia in relapse with an initial blood count of less than 2 millions of erythrocytes per mm³. Blood counts and hemoglobin determinations were performed before and at least on the first, seventh, fourteenth and twenty first day of the treatment. Reticulocytes were counted daily. The preparations were considered as fully active if they gave an increase of at least 1.2 millions of erythrocytes per mm³ in 21 days, as moderately active with an increase of 0.6 million–1.2 millions, and as inactive with an increase of less than 0.6 million. Although an occasional patient with pernicious anemia may show a slight or transient hematopoietic response following the daily oral administration of 5–10 micrograms of vitamin B₁₂ without added intrinsic factor, we did not regularly administer this dose of vitamin B₁₂ as an oral control therapy before the test. We believe that the remote possibility that some response