

tives of galactose more easily than on those of glucose. It seems probable, therefore, that the mechanism of L-ascorbic acid biosynthesis in animal tissue is in substantial agreement with that found with plant system¹³.

*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine,
University of Tokyo, Tokyo (Japan)*

YOSHITAKE MANO
KAZUO YAMADA
KANTARO SUZUKI
NORIO SHIMAZONO

- ¹ J. J. BURNS, P. PEYSER AND A. MOLTZ, *Science*, 124 (1956) 1148.
- ² I. B. CHATTERJEE, J. J. GHOSH, N. C. GHOSH AND B. C. GUHA, *Biochem. J.*, 70 (1958) 509.
- ³ K. YAMADA, S. ISHIKAWA AND N. SHIMAZONO, *Biochim. Biophys. Acta*, 32 (1959) 253.
- ⁴ C. BUBLITZ AND A. L. LEHNINGER, *Biochim. Biophys. Acta*, 32 (1959) 200.
- ⁵ K. YAMADA, *J. Biochem. (Tokyo)*, 46 (1959) 529.
- ⁶ H. G. HERS, *Le Métabolisme du Fructose*, Bruxelles (1957), p. 133.
- ⁷ M. UL-HASSAN AND A. L. LEHNINGER, *J. Biol. Chem.*, 223 (1956) 123.
- ⁸ W. C. SCHNEIDER AND G. H. HOGEBOM, *J. Biol. Chem.*, 183 (1950) 123.
- ⁹ K. YAMADA, *J. Biochem. (Tokyo)*, 46 (1959) 361.
- ¹⁰ J. WINKELMAN AND A. L. LEHNINGER, *J. Biol. Chem.*, 233 (1958) 794.
- ¹¹ L. W. MAPSON AND F. A. ISHERWOOD, *Biochem. J.*, 64 (1956) 13.
- ¹² H. MATSUI, to be published.
- ¹³ L. W. MAPSON, *Proc. IVth Internat. Congr. Biochem., Symp. XI*, No. 3 (1958).
- ¹⁴ G. ASHWELL, A. WAHBA AND J. HICKMAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 30 (1958) 186.
- ¹⁵ Y. TAKAGI, M. KANDA AND Y. NAKATA, *Biochim. Biophys. Acta*, 31 (1959) 264.

Received May 22nd, 1959

Isolement et composition en acides aminés d'une substance glycopeptidique formée par action de la présure sur la caséine du lait de vache

La caséine du lait de vache, soumise à l'action de la présure ("rennin"), subit à pH 6.8 une protéolyse rapide mais limitée; il apparaît dans le filtrat trichloracétique des substances azotées solubles, qui représentent de 1 à 3.5 % de l'azote de la caséine, selon les conditions de déprotéinisation et, en particulier, selon la concentration en acide trichloracétique¹. Des études préliminaires^{2,3} ont montré que la substance soluble dans l'acide trichloracétique à 12 % de concentration finale ("NPN-12 %") est de nature glycopeptidique, ne dialyse pas à travers les membranes de cellulose, contient moins de phosphore que la caséine de départ, aucun acide aminé aromatique et renferme une partie non peptidique, dans laquelle on a trouvé de la glucosamine, du galactose et de l'acide neuraminique.

Le "NPN-12 %" provenant de la caséine entière et le "NPN-12 %" provenant de la caséine α de lait de vache, après dialyse poussée, contiennent 13 % d'azote. Chacune de ces substances a été soumise à des essais de purification par passage sur colonne de résine échangeur d'ions.

Le "NPN-12 %" de caséine α par passage sur Dowex 50-X2 donne naissance à trois fractions principales A α , B α et C α , représentant respectivement 41 %, 14 % et 43 % du produit de départ (Fig. 1).

Le "NPN-12 %" de caséine entière se comporte d'une façon analogue et la chromatographie permet également de repérer trois fractions principales: A, B et C (40 %, 10 %, 50 %).

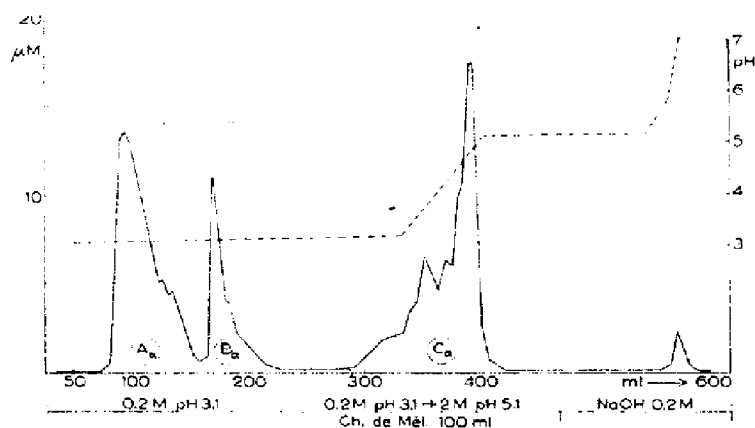


Fig. 1. Chromatographie de 125 mg de "NPN-12%" de caséine α sur colonne de Dowex 50-X2 de 105 $\times$ 1.9 cm, à 35°. Solutions tampons de citrate et d'acétate de sodium. — coloration ninhydrine après hydrolyse alcaline, exprimée en concentration μM d'équivalent leucine; ---- pH.

Après rechromatographie sur Dowex 50-X2 dans les mêmes conditions, les fractions B et B_α paraissent homogènes; elles donnent un pic symétrique et par ionophorèse sur papier, à pH 3.6 et pH 6.5, une seule substance a pu être repérée. Il a paru alors intéressant de déterminer les compositions en acides aminés de cette fraction homogène B_α , ainsi que de C_α (rechromatographié, mais dont la pureté n'a pas été contrôlée) et de les comparer à celles du "NPN-12%" de caséine totale et du "NPN-12%" de caséine α . Les analyses faites suivant la méthode de MOORE, SPACKMAN ET STEIN⁴, après hydrolyse acide totale (24 h; 110°; HCl 6 N), ont montré que la partie peptidique du "NPN-12%" de caséine entière, du "NPN-12%" de caséine α , de B_α et de C_α est semblable. Le glycopeptide ainsi isolé contient les onze acides aminés suivants: Gly, Ala, Ser, Pro, Thr, Val, Leu, Ileu, Asp, Glu et Lys; par

TABLEAU I
COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS DES DIVERS "NPN-12%"
(en % de la partie peptidique)

Acide aminé	NPN-12%		B_α	C_α
	Caséine entière	Caséine α		
Gly	1.0	0.5	0.9	1.0
Ala	7.2	5.8	7.8	7.8
Ser	10.1	8.5	8.1	8.1
Pro	11.4	12.8	12.2	11.1
Thr	14.3	14.6	14.7	15.5
Val	9.3	9.2	7.8	9.2
Leu	2.7	2.8	2.7	2.4
Ileu	10.0	10.0	9.9	9.7
Asp	10.2	10.3	9.6	10.7
Glu	17.5	18.4	19.1	17.5
Lys	6.3	6.6	7.2	6.9
Total	100.0	99.5	100.0	99.9

Il n'a pas été tenu compte de la destruction subie par certains acides aminés au cours de l'hydrolyse acide totale.

contre, il est dépourvu de Cys, Met, Arg, His et d'acides aminés aromatiques. Les compositions en acides aminés du "NPN-12 %" de caséine entière, du "NPN-12 %" de caséine α , de B_α et de C_α sont indiquées dans le Tableau I.

Il apparaît donc que l'action de la présure sur la caséine entière comme sur la caséine α libère une substance dont la partie peptidique est la même. Cette partie peptidique forme environ 60 % du "NPN-12 %" de caséine entière et du "NPN-12 %" de caséine α ; elle ne forme qu'une proportion plus réduite des fractions B_α et C_α . L'étude des composés de la partie non peptidique (sucres, osamines, acide neuraminique, etc. . .) est en cours. C'est sans doute cette dernière — et non la partie peptidique dont la composition en acides aminés semble constante — qui détermine le comportement chromatographique des diverses fractions.

Après action du réactif de SANGER sur le glycopeptide, aucun acide aminé N-terminal n'a pu être déterminé jusqu'à présent.

Par action de la carboxypeptidase (pH 7.5; 37°, présence de diisopropylfluorophosphate) plusieurs acides aminés sont rapidement détachés; mais après une action enzymique de 4 min seulement, on n'obtient que Val, Ala, et Thr avec un fort rendement. L'étude des peptides de l'hydrolysât trypsique (qui est actuellement en cours) permettra de déterminer exactement l'enchaînement C-terminal.

P. JOLLÈS

C. ALAIS

*Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté des Sciences, Paris, et
Station Centrale de Microbiologie et Recherches laitières,
Jouy-en-Josas, S. et O., (France)*

¹ C. ALAIS, C. MOCQUOT, H. NITSCHMANN ET P. ZÄHLER, *Helv. Chim. Acta*, 36 (1953) 1955.

² C. ALAIS, *XIV^{me} Congrès Intern. de Laiterie*, 2 (1956) 823.

³ H. NITSCHMANN, H. WISSMANN ET R. HENZI, *Chimia*, 11 (1957) 76.

⁴ S. MOORE, D. H. SPACKMAN ET W. H. STEIN, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1185.

Reçu le 4 mai, 1959

Distribution of methylated purines in cell fractions from mouse liver and tumour

The occurrence of methylated purines as minor components of RNA has recently been reported by a number of workers^{1,4,5,8,12}. In most of these investigations, analyses have been made on RNA from whole tissues or organs. In the work reported here we have found that the "soluble" cytoplasmic fraction of mouse liver and of a mouse mammary adenocarcinoma contains substantially more of these bases than mitochondrial or microsomal fractions, and also that the soluble cytoplasm RNA from tumour is richer in these bases than that from liver.

Tumour tissues and livers from tumour-bearing mice were homogenised in 0.25 *M* sucrose — 0.05 *M* Tris, pH 7.8. After centrifugation at $2,000 \times g$ for 5 min, the mitochondrial fraction was sedimented by centrifugation at $10,000 \times g$ (R_{max}) for 15 min in the Spinco model E ultracentrifuge. The microsome fraction was sedimented by

Abbreviations: RNA, ribonucleic acid; Tris, tris(hydroxymethyl)aminomethane; 1 MeG, 1-methylguanine; (Me)₁G, 2-methylamino-6-hydroxypurine; (Me)₂G, 2-dimethylamino-6-hydroxypurine; 2 MeA, 2-methyladenine; (Me)₁A, 6-methylaminopurine; (Me)₂A, 6-dimethylaminopurine.