

with a set of different concentrations of standard samples, and by determining the N- and C-terminal groups by means of the dinitrophenylation technique and hydrazinolysis, respectively. The partial structure and/or the complete amino acid sequence of the peptides has been determined.

Table I presents a survey of peptides in order of emergence from the column.

TABLE I
PEPTIDES ISOLATED FROM A PEPTIC HYDROLYSATE OF DIP-TRYPSIN

AspNH ₂ ·Ser	Lys·(Ser ₂ , Glu, Thr, Ala, Ileu)·Asp
Val·(AspNH ₂ , Glu ₃ , Gly)	Lys·(Ser, Ala)
Val·(Ala, Ser)·Ser	AspNH ₂ ·Ser·Arg·Val·Ala·Ser
Ileu·(Ser, AspNH ₂)·GluNH ₂	Val·(Arg, Leu, Gly, Glu, Asp, (I)Leu, AspNH ₂)
AspNH ₂ ·Ileu	Val·Arg·Leu·(Gly, GluNH ₂)·Asp
Ileu·(AspNH ₂ , Ser)	Arg·Val·Ala·Ser
Ileu·(Ala, Ser)	Ileu·(AspNH ₂ , Ser, Glu, Try)
Asp·(Ala, Ileu)·Ser	(Leu, Lys)·Leu
Val·(Leu, Ser)	Val·(Arg, Leu, Gly)
Ileu·(Ser, Leu)	Ileu·(Ser, Gly)·Try·Gly·(AspNH ₂ , Thr)·
Asp·(Ser ₂ , Tyr)	Lys·(Ser ₃ , Gly, Thr, Pro, Tyr, Val, AspNH ₂)
(I)Leu·(Ser, (II)Leu)	Tyr·(Ser, Val ₂ , Try)
Pro·(Leu, Ileu)	Ileu·(His, Lys ₂ , Ser ₄ , Ala, Pro, Tyr)
(Lys, Ser ₃ , Ala, Ileu)	Ileu·(Ser, Gly)·Try·Gly·(AspNH ₂ , Thr)·Lys
Lys·(AspNH ₂ , Ser, Ala, Leu)·Ser	(Lys, Ser, Ala, Leu)

It can be seen from Table I that, among others, peptides containing lysine and arginine residues in the middle of the chain were isolated from the peptic hydrolysate. Both molecules of arginine, which are present in the molecule of DIP-trypsin, were revealed in the peptides isolated and their sequence established. Of the 3 molecules of histidine we succeeded in finding only one and of the 14 molecules of lysine only 8.

In addition, 3 residues of tryptophan, to which only minor attention has been paid in previous studies, were found in the peptides isolated.

Department of Biochemistry, Institute of Chemistry,
Czechoslovak Academy of Science, Prague (Czechoslovakia)

V. TOMÁŠEK
V. HOLEYŠOVSKÝ
O. MIKEŠ
F. ŠORM

¹ F. ŠORM, B. KEIL, V. HOLEYŠOVSKÝ, B. MELOUN, O. MIKEŠ AND J. VANĚČEK, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 23 (1958) 985.

² B. KEIL, F. ŠORM, V. HOLEYŠOVSKÝ, V. KOSTKA, B. MELOUN, O. MIKEŠ, V. TOMÁŠEK AND J. VANĚČEK, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 24 (1959) 3491.

³ J. VANĚČEK, B. MELOUN, V. KOSTKA, B. KEIL AND F. ŠORM, *Biochim. Biophys. Acta*, 37 (1960) 169.

⁴ S. G. WALEY AND J. WATSON, *Biochem. J.*, 55 (1953) 328.

Received January 21st, 1960

Biochim. Biophys. Acta, 38 (1960) 570-571

Présence de deux vasopressines dans la neurohypophyse du poulet

A partir de la post-hypophyse des mammifères, il est possible d'isoler un complexe renfermant les deux peptides *ocytocine* et *vasopressine* et une protéine inerte, la *neurophysine*¹; un procédé de purification simultanée des deux hormones prenant

Biochim. Biophys. Acta, 38 (1960) 571-573

avantage de cette association particulière a été décrit². Nous avons constaté récemment qu'il était possible de reconstituer le complexe à partir d'ocytocine, de vasopressine et de neurophysine provenant d'espèces différentes³. La neurohypophyse du poulet contenant des quantités appréciables d'ocytocine et de vasopressine mais peu ou pas de neurophysine, la purification des hormones a pu cependant être réalisée en effectuant un apport de neurophysine de cheval, et en appliquant ensuite le procédé habituel⁴.

L'extraction de la poudre acétonique neurohypophysaire* (0.4 unité U.S.P. ocytocique ou vasopressique/mg) par H_2SO_4 dilué, l'addition de neurophysine de cheval, et la précipitation du complexe par NaCl sont effectuées dans les conditions antérieurement décrites⁴. Le complexe est dissocié par l'acide trichloracétique à 5 % qui précipite la neurophysine; on trouve dans le liquide surnageant 75-85 % des deux activités initiales. Après élimination de l'acide trichloracétique par passage sur une colonne d'Amberlite IR-45, les hormones sont chromatographiées sur une colonne d'Amberlite IRC-50 en utilisant un gradient de pH et de force ionique au moyen de tampons acétate d'ammonium. Des fractions de 1 ml sont recueillies et on dose les activités ocytocique et vasopressique dans ces fractions. La Fig. 1 indique les résultats.

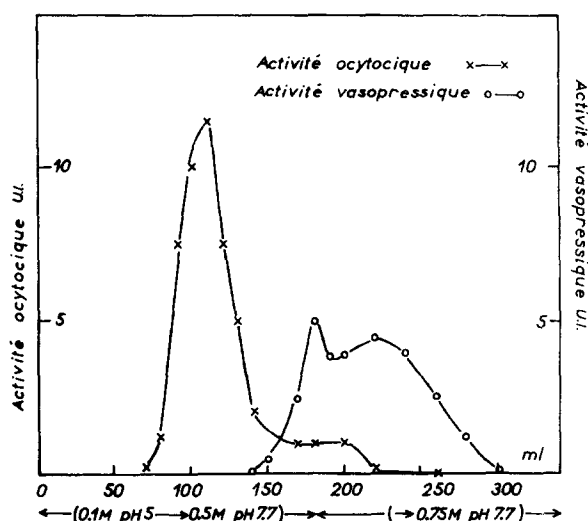


Fig. 1. Chromatographie des hormones neurohypophysaires du poulet sur Amberlite IRC-50: les hormones sont adsorbées au sommet d'une colonne de résine forme H (0.9×10 cm); la colonne est ensuite équilibrée avec un tampon acétate d'ammonium 0.1 M à pH 5.0 et le gradient est successivement réalisé avec des solutions 0.5 M et 0.75 M à pH 7.7.

80 % de l'activité ocytocique soumise à la chromatographie se trouve dans un pic qui occupe la position habituelle de l'ocytocine des mammifères; à ce pic correspond une substance unique qui possède la composition en acides aminés de l'ocytocine des mammifères⁴. L'activité vasopressique se trouve répartie en deux pics correspondants à deux substances: la première sortie de la colonne (vasopressine I) occupe une

* Nous sommes heureux de remercier ici la Société Industrielle de Transformation de Produits Agricoles qui nous a très aimablement fourni les têtes de poulet.

position inhabituelle mais la deuxième (vasopressine II) occupe la position de l'arginine-vasopressine des mammifères. Les tubes 170–200, contenant de la vasopressine I et les tubes 240–300, contenant la vasopressine II sont rassemblés, puis après élimination de l'acétate d'ammonium, les substances sont hydrolysées par HCl 6 N.

La vasopressine II possède la composition en acides aminés de l'arginine-vasopressine. La vasopressine I possède une composition voisine, mais le résidu de phénylalanine est remplacé par un résidu d'isoleucine. Cette nouvelle vasopressine possède une composition identique à celle d'un peptide synthétique, l'*arginine-vasotocine*, synthétisé par KATSOYANNIS ET DU VIGNEAUD⁵; comme ce dernier peptide, la nouvelle vasopressine possède une activité ocytotique secondaire relativement élevée si on la compare à l'activité vasopressique.

Cependant, une comparaison soigneuse des deux produits est nécessaire avant de conclure à une identité. Quoiqu'il en soit, la neurophysine du poulet, à la différence de celle des mammifères, contient 3 hormones neurohypophysaires de composition voisine.

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

JACQUELINE CHAUVET
MARIE-THÉRÈSE LENCI
ROGER ACHER

¹ R. ACHER, J. CHAUVET ET G. OLIVRY, *Biochim. Biophys. Acta*, 22 (1956) 421.

² R. ACHER, A. LIGHT ET V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.*, 233 (1958) 116.

³ J. CHAUVET, M.-T. LENCI ET R. ACHER, *Biochim. Biophys. Acta*, 38 (1960) 266.

⁴ R. ACHER, J. CHAUVET ET M.-T. LENCI, *Biochim. Biophys. Acta*, 38 (1960) 344.

⁵ P. G. KATSOYANNIS ET V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.*, 233 (1958) 1352.

Reçu le 24 décembre 1959

Biochim. Biophys. Acta, 38 (1960) 571–573

The effect of paramagnetic substances on the conversion of some pyrimidines by ultraviolet radiation

In previous papers^{1–6} we have reported upon the effects of ultraviolet radiation (2537 Å) on some components of nucleic acids in aqueous solution. A reversible hydration of uracil was known from the work of SINSHEIMER AND HASTINGS⁷. Moreover, long-continued irradiation leads to an irreversible destruction of these compounds. These reactions could be followed by the alterations of the ultraviolet spectra. We have found that besides these two photochemical phenomena, the pyrimidines show another reaction which is probably the most important. It appears that irradiation of aqueous solutions of the compounds, without any time lag, also brings about partial conversion into low-absorbing substances. The probable connection between this photochemical conversion and the lethal and mutagenic effects of ultraviolet radiation on micro-organisms has been suggested¹.

This reaction, which we have called "the first irreversible reaction" is remarkable because the extent to which it occurs appears limited to a specific percentage of the amount of the pyrimidine originally present (uracil, 6 %; thymine, 2 %; orotic acid, 13 %; cytosine, 3 %).

We have recently found a relationship between the amount of conversion and the oxygen concentration. Irradiation of an aq. solution of uracil saturated with O₂ brings