

Présence d'une vasotocine dans la neurohypophyse de la grenouille (*Rana esculenta* L.)

Les hormones neurohypophysaires du poulet responsables des activités ocytotique et pressique ont été récemment purifiées^{1,2} et trois substances ont pu être mises en évidence alors que chez les mammifères deux hormones seulement, l'*ocytocine* et la *vasopressine*, rendent compte des activités mentionnées. Il a paru intéressant d'étudier les principes actifs des vertébrés inférieurs chez lesquels la régulation du métabolisme hydrominéral pose des problèmes différents de ceux des mammifères et des oiseaux. L'existence d'un facteur nouveau chez les vertébrés à sang froid a été suggérée par PICKERING ET HELLER³, SAWYER *et al.*⁴, et MAETZ *et al.*^{5,6} sur la base de données pharmacologiques. L'hypophyse de grenouille se prêtant aisément à la séparation des lobes "antérieur" et "postérieur", ce matériel a été choisi en premier lieu.

La dissection de 20,000 glandes a fourni 2 g de poudre acétonique post-hypophysaire titrant environ 1 unité U.S.P. ocytotique ou vasopressique/mg. L'activité "natriférique", c'est-à-dire l'action sur le transport actif du sodium à travers la peau isolée de grenouille, a été mesurée par la méthode de USSING⁷ modifiée par MOREL *et al.*⁸, en prenant comme référence le standard post-hypophysaire U.S.P., qui par convention possède 2 unités natriférique/mg. La poudre post-hypophysaire de grenouille titre environ 10 unités natriférique/mg.

Deux préparations ont été effectuées en utilisant chaque fois 1 g de matière première. La purification a été entreprise en adsorbant spécifiquement les hormones sur une protéine, la *neurophysine* du mouton⁹. L'extraction de la poudre par H₂SO₄ dilué, l'addition de neurophysine et la préparation du complexe par NaCl sont conduites de la façon antérieurement décrite pour la purification des hormones du poulet¹. A ce stade environ 70-80 % des trois activités sont recueillies. Le complexe est dissocié par l'acide trichloracétique à 5 % qui précipite la neurophysine mais laisse les principes actifs en solution (50 à 70 % des 3 activités); après élimination de l'acide, les hormones sont chromatographiées sur une colonne d'Amberlite IRC-50 en utilisant

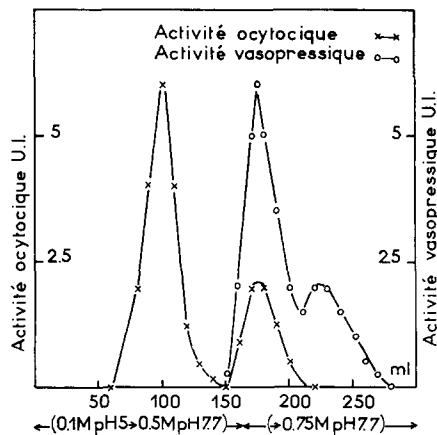


Fig. 1. Chromatographie des hormones neurohypophysaires de la grenouille sur Amberlite IRC-50: les hormones sont adsorbées au sommet d'une colonne de résine forme H (0.9 × 10 cm); la colonne est ensuite équilibrée avec un tampon acétate d'ammonium 0.1 M à pH 5.0 et le gradient est successivement réalisé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

un gradient de pH et de force ionique au moyen de tampons acétate d'ammonium. La Fig. 1 indique les résultats en ce qui concerne les activités ocytotique et pressique.

On constate la présence d'au moins trois substances actives. La première sortie de la colonne possède la majeure partie de l'activité ocytotique récupérée. La seconde possède les deux activités ocytotique et pressique. La troisième ne possède pratiquement que l'activité pressique et sa position sur le chromatogramme correspond à celle de l'arginine-vasopressine des mammifères. Les tubes contenant la deuxième substance sont réunis et une fraction du matériel est rechromatographiée sur une colonne de carboxyméthylcellulose (1.5 \times 22 cm) en utilisant un gradient de pH et de force ionique au moyen de tampons acétate d'ammonium (0.02 *M*, pH 5.2 à 0.2 *M*, pH 7.0). On recueille des fractions de 1 ml et on dose les trois activités pressique, ocytotique et natriférique dans les tubes. On constate une coïncidence des courbes des 3 activités qui plaide en faveur de l'homogénéité du matériel. L'hydrolyse du produit par HCl 6 *N* fournit les acides aminés suivants: (Cys)₂, Tyr, Ileu, Asp, u, Pro, Arg, Gly avec une faible quantité d'Ala. La substance isolée correspond par sa composition en acides aminés, sa position sur le chromatogramme d'Amberlite IRC-50 et ses propriétés biologiques à une nouvelle hormone déjà obtenue à partir de la posthypophyse de poulet²; sa composition paraît identique à celle d'un analogue de la vasopressine, l'arginine-vasotocine, synthétisé par KATSOYANNIS ET DU VIGNEAUD¹⁰. D'autre part, étudiées sur différents tests, les propriétés biologiques du produit isolé se sont avérées comparables à celles de l'arginine-vasotocine de synthèse*. Ces résultats sont en accord avec les observations pharmacologiques de SAWYER¹¹ suggérant l'existence de cette hormone chez les vertébrés inférieurs.

*Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté des Sciences, Paris
et Service de Biologie du Commissariat à l'Energie Atomique,
Saclay (France)*

R. ACHER
J. CHAUVET
M. T. LENCI
F. MOREL
J. MAETZ

¹ R. ACHER, J. CHAUVET ET M. T. LENCI, *Biochim. Biophys. Acta*, 38 (1960) 344.

² J. CHAUVET, M. T. LENCI ET R. ACHER, *Biochim. Acta*, 38 (1960) 571.

³ B. T. PICKERING ET H. HELLER, *Nature*, 184 (1959) 1463.

⁴ W. H. SAWYER, R. A. MUNSICK ET H. B. VAN DYKE, *Nature*, 184 (1959) 1464.

⁵ J. MAETZ, F. MOREL ET B. RACE, *Biochim. Biophys. Acta*, 36 (1959) 317.

⁶ J. MAETZ, F. MOREL ET B. LAHLOUH, *Nature*, 184 (1959) 236.

⁷ H. H. USSING, *Symposia Soc. Exptl. Biol.* No. 8 (1954), 407.

⁸ F. MOREL, J. MAETZ ET CL. LUCARAIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 28 (1958) 619.

⁹ J. CHAUVET, M. T. LENCI ET R. ACHER, *Biochim. Biophys. Acta*, 38 (1960) 266.

¹⁰ P. G. KATSOYANNIS ET V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.*, 233 (1958) 1352.

¹¹ W. H. SAWYER, *Endocrinology*, 66 (1960) 112.

Reçu le 9 juin 1960

* L'arginine-vasotocine de synthèse nous a été aimablement fournie par Dr. DU VIGNEAUD que nous tenons à remercier.