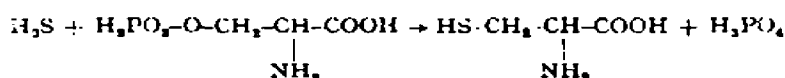


# Synthèse enzymatique de cystéine à partir de phosphosérine et de sulfure

On a montré précédemment<sup>1</sup> que le pyridoxal ou le phosphate de pyridoxal en présence de métal catalyse la synthèse de cystéine à partir de la phosphosérine et de sulfure minéral par la réaction :



Il existe dans le sac vitellin d'embryon de poule un enzyme catalysant la même réaction. La préparation enzymatique utilisée est obtenue à partir d'un homogénat de sacs vitellins d'oeufs embryonnés de poule âgés de 17 jours. L'homogénat est extrait par de l'éther éthylique jusqu'à obtention d'une couche éthérée incolore, centrifugé puis est additionné de sulfate d'ammonium jusqu'à une concentration de 40% de la saturation. Le précipité obtenu, dialysé, est purifié par adsorption sur gel de phosphate de calcium et élution par une solution de sulfate d'ammonium à 13% de la saturation. La solution protéique obtenue est privée de sulfate d'ammonium par dialyse. Les conditions expérimentales d'incubation de la préparation enzymatique sont indiquées dans le Tableau I.

TABLEAU I

FORMATION DE [<sup>35</sup>S]CYSTÉINE À PARTIR DE PHOSPHOSÉRINE ET DE [<sup>35</sup>S]SULFURE EN PRÉSENCE D'UNE FRACTION PROTÉIQUE ISOLÉE DU SAC VITELLIN D'EMBRYON DE POULE

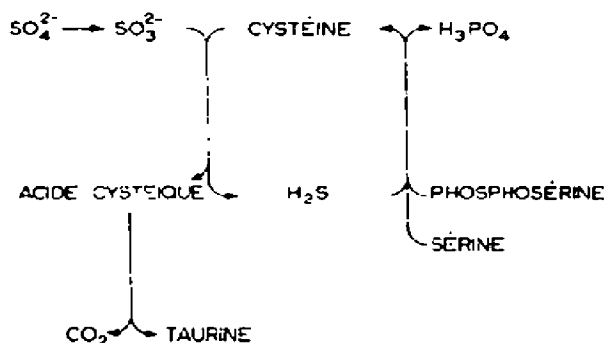
Incubation 150 min à 38° en anaérobiose. Volume final, 190 µl (pH 8.9). Les résultats sont exprimés en mµmoles du composé formé pour 100 µl d'une solution de protéine dont l'absorbance à 280 mµ et dans la soude 0.1 N est de 1.

	Composition du milieu				
	I	II	III	IV	V
DL Sérine (µmoles)	0	4	0	0	0
DL-Phosphosérine (µmoles)	0	0	4	4	4
<sup>35</sup> S]Sulfure de sodium (µmoles)	1	4	4	4	4
Phosphate de pyridoxal (µmoles)	0.03	0	0.03	0	0
Tris, 1 M (pH 9) (µl)	60	60	145	60	60
Préparation enzymatique (µl)	100	100	0	100	100
[ <sup>35</sup> S]Cystéine (mµmoles)	0	0	0	600	600

\* La solution de phosphosérine est passée sur une colonne de Dowex-50 (H<sup>+</sup>) pour éliminer les traces d'autres acides aminés éventuellement présents.

A la fin de l'incubation on ajoute une solution d'acide performique préparée selon DU VIGNEAUX<sup>2</sup>. Après une nuit à 0°, la [<sup>35</sup>S]cystéine et le [<sup>35</sup>S]sulfure sont quantitativement oxydés en acide [<sup>35</sup>S]cystéique et en [<sup>35</sup>S]sulfate. Ces composés sont séparés par électrophorèse sur papier (électrolyte: acide formique 1 N, 10 V/cm pendant 70 min). Le Tableau I donne les résultats obtenus. Les Expériences I-III sont des témoins montrant en particulier que la sérine n'est pas utilisée pour la synthèse de cystéine en présence de sulfure par la préparation enzymatique employée. Celle-ci ne contient donc pas de L-sérine-hydrolyase (ajoutant H<sub>2</sub>S) ou cystéine-synthase (EC 4.2.1.22). Les Expériences IV et V au contraire indiquent l'aptitude

de cette préparation enzymatique à catalyser la synthèse de cystéine à partir de phosphosérine et de sulfure. Il existe donc dans le sac vitellin un système enzymatique catalysant la déphosphorylation et la  $\beta$ -substitution de la phosphosérine par un composé soufré tel que le sulfure. Ce système enzymatique n'utilise pas la sérine comme substrat, et mis à part le sac vitellin, ce système enzymatique n'a pas été trouvé dans les autres tissus de l'œuf embryonné de poule. En particulier, il est absent du foie de l'embryon. Ce fait distingue aussi le présent système enzymatique de la L-sérine-hydrolyase. On suggère d'appeler ce nouvel enzyme phosphosérine-phospholyase (ajoutant  $H_2S$ ). La participation du pyridoxal phosphate à l'activité de la phosphosérine-phospholyase n'a pas été démontrée jusqu'ici, mais elle est très probable. Les préparations moins purifiées de sac vitellin contiennent aussi, à côté de la phosphosérinephospholyase de la sérine-hydrolyase<sup>3</sup>. La présence simultanée dans le sac vitellin des enzymes réduisant le sulfate en sulfite<sup>1</sup>, de la cystéine  $H_2S$ -lyase (EC 4.4.1.1)<sup>2</sup>, de la sérine-hydrolyase et de la phosphosérine-phospholyase suggèrent pour la synthèse de l'acide cystéique le schéma suivant.



Celui-ci fait apparaître un cycle du soufre réduit et un renouvellement de la chaîne carbonée de la cystéine. Au cours du fonctionnement d'un tel cycle, seul le sulfure n'est pas consommé et ce soufre se comporte comme un facteur de type catalytique, nécessaire à la fixation du sulfite sur le carbone  $\beta$  des chaînes tricarbonées et aminées impliquées.

Section Autonome de Chimie Biologique  
du Département de Biologie  
Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay,  
Gif-sur-Yvette (Seine et Oise) France

A. SENTENAC  
F. CHAPEVILLE  
P. FROMAGEOT

<sup>1</sup> O. RATSISALOVANINA, F. CHAPEVILLE ET P. FROMAGEOT, *Biochim. Biophys. Acta*, 49 (1961) 322.

<sup>2</sup> J. M. MÜLLER, J. G. PIERCE, H. DAVOLL ET V. DU VIGNEAUD, *J. Biol. Chem.*, 191 (1951) 309.

<sup>3</sup> A. SENTENAC, P. FROMAGEOT ET F. CHAPEVILLE, résultats non publiés.

<sup>4</sup> F. CHAPEVILLE ET P. FROMAGEOT, *Biochim. Biophys. Acta*, 20 (1957) 538.

Reçu le 17 décembre, 1962

\* Le terme cystéine  $H_2S$ -lyase (EC 4.4.1.1) est le nom donné par la commission internationale de nomenclature des enzymes à l'enzyme appelé autrefois cystéine-lyase. On rappellera que le rôle physiologique de cet enzyme est la catalyse de la réaction sulfite + cystéine  $\rightarrow$  acide cystéique + sulfure.