

Communications provisoires - Vorläufige Mitteilungen Comunicazioni preliminari - Preliminary reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. — Für die vorläufigen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. — Per le comunicazioni preliminari è responsabile solo l'autore. — The Editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

L'adsorption des metalloferments à la surface des précipités minéraux

Nous avons montré précédemment que les phénomènes d'adsorption auxquels les précipités minéraux donnent lieu, peuvent servir de base à des méthodes préparatives et analytiques intéressantes¹. Nous nous sommes proposé de voir si ces phénomènes ne pourraient aussi être utilisés dans l'étude des metalloprotéines. Si, en effet, on met un metalloferment en présence d'un sel insoluble du même métal, préparé de préférence en présence d'un excès d'anions, il est légitime de penser que le ferment se fixera sur le réseau par ses ions métalliques *en devenant inactif*. KUHN² signale un phénomène analogue dans le cas de la lipase du pancréas adsorbée sur le cholestérol ou la tristéarine.

Nous avons étudié l'adsorption d'une zincoprotéine: l'anhydrase carbonique, sur une série de précipités, en comparant les activités de a) la solution de ferment étendue à un certain volume, b) la suspension du précipité contenant la même concentration en ferment et c) le filtrat de cette suspension. Les différents adsorbants que nous avons utilisés sont: ZnO , ZnCO_3 , $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$, ZnC_2O_4 , ZnS , $\text{Zn}(\text{CN})_2$; AgCN , Ag_2S ; $\text{Cu}_2(\text{CN})_2$; $\text{Co}(\text{CN})_2$; $\text{Pb}(\text{CN})_2$. La précipitation avait toujours lieu en présence d'un excès d'anions qui était ensuite éliminé par des lavages répétés (à l'exception de Ag CN , qui ne floccule pas dans ces conditions). La préparation du ferment a été effectuée suivant KEILIN et MANN³ et son dosage par la méthode de PHILPOT et PHILPOT^{4,5}.

Le ferment s'adsorbe notablement sur toutes les substances étudiées. Par contre, l'activité du ferment adsorbé varie très fortement d'un précipité à l'autre. On peut distinguer deux cas:

a) on observe, du fait de l'adsorption, une diminution d'activité nulle ($\text{Co}(\text{CN})_2$) ou relativement faible (ZnO , ZnCO_3 , $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$, ZnC_2O_4 , ZnS , $\text{Cu}_2(\text{CN})_2$, $\text{Pb}(\text{CN})_2$); elle est pour ces dernières substances de 30 % environ⁶;

b) le ferment adsorbé est pratiquement complètement inactivé (Ag_2S , $\text{Zn}(\text{CN})_2$, Ag CN). On observe encore pour Ag_2S une activité de 10 % alors que dans le cas de $\text{Zn}(\text{CN})_2$ et Ag CN , elle est *nulle*; les valeurs obtenues sont immédiatement constantes. Nous n'avons pu régénérer le ferment adsorbé sur $\text{Zn}(\text{CN})_2$: il ne s'élue pas par K_2HPO_4 m/5 et Na_2CO_3 m/5; d'autre part, nous n'avons pas réussi à reproduire les expériences de réactivation du ferment inhibé par KCN décrites par KEILIN et MANN¹, en partant d'une suspension de $\text{Zn}(\text{CN})_2$ redissoute dans KCN ou $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ puis additionnée de ferment.

La diminution que l'on observe dans le premier cas est très probablement due à ce que la réaction est partiellement limitée par la vitesse de diffusion de l'acide carbonique ainsi que NELSON et HITCHCOCK² l'ont montré dans le cas de l'invertase. (Le comportement exceptionnel de $\text{Co}(\text{CN})_2$ serait attribuable à la structure très peu compacte, très particulière de ce précipité). Dans le second cas, au contraire, on a affaire soit à une adsorption orientée (à peu près complète avec Ag_2S , complète avec $\text{Zn}(\text{CN})_2$ et Ag CN), soit à une dénaturation très rapide du ferment adsorbé.

En conclusion, de même qu'ils n'ont plus leur réactivité chimique habituelle, les ions métalliques des metalloprotéines ont perdu leur adsorbabilité normale. Toutefois, *lorsque le réseau comprend un anion tel que S^{--} ou CN^- qui réagit encore avec le métal du ferment (inhibiteur), il est possible qu'il y ait parfois adsorption orientée*. La cause de l'inactivation du ferment adsorbé sur $\text{Zn}(\text{CN})_2$, Ag CN et Ag_2S reste incertaine, mais l'étude de metalloferments plus stables doit pouvoir nous fixer à ce sujet. La loi de FAJANS et VON BECKERATH³ suivant laquelle il y a adsorption d'un ion lorsque celui-ci forme avec l'ion de signe opposé du réseau un composé peu soluble, n'est plus valable. Le phénomène dépend aussi fortement de la nature du cation. Même la présence dans le réseau du même métal que celui du metalloferment ne suffit pas à le déterminer.

G. HAMOIR

Laboratoire de Biologie générale, Faculté des Sciences, Université de Liège, le 12 juin 1946.

Summary

The activity of a zincoprotein, carbonic anhydrase, adsorbed on different mineral precipitates has been determined. No difference in activity could generally be detected between adsorbed and non-adsorbed enzyme. However, when the anion of the precipitate is a strong inhibitor, the adsorbed enzyme sometimes becomes completely inactive. In conclusion, the author has attempted to define the conditions under which the adsorption of a metallic enzyme on a mineral precipitate is influenced by the enzyme's metallic ion.

¹ D. KEILIN et T. MANN, *Bioch. J.* 34, 1163 (1940).

² J. M. NELSON et D. J. HITCHCOCK, *J. amer. chem. Soc.* 43, 1956 (1921).

³ K. FAJANS et K. VON BECKERATH, *Z. physikal. Chem.* 97, 478 (1921).

¹ G. HAMOIR, *Bioch. J.* 39, 485 (1945). — *Bull. Soc. Roy. Sciences Liège* 10, 451 (1945).

² C. OPPENHEIMER, *Die Fermente und ihre Wirkungen*. Georg Thieme, Leipzig, p. 122 (1926).

³ D. KEILIN et T. MANN, *Bioch. J.* 34, 1163 (1940).

⁴ Lorsque nous avons déterminé l'activité du ferment sur la suspension de l'adsorbant, nous avons effectué plusieurs mesures correspondant à différents temps de passage du CO_2 . Celui-ci pourrait en effet fausser le dosage en désorbant le ferment ou en provoquant le passage d'ions du précipité en solution. Nous n'avons observé de changement d'activité que pour $\text{Pb}(\text{CN})_2$, qui réagit en surface en libérant des ions CN^- , et $\text{Zn}(\text{OH})_2$ qui passe en solution. On y remédie dans le cas de $\text{Pb}(\text{CN})_2$ par extrapolation en effectuant le dosage après différents temps de passage du CO_2 et dans celui de $\text{Zn}(\text{OH})_2$ en utilisant l'oxyde de zinc pur du commerce, pratiquement insoluble dans ces conditions.

⁵ F. J. PHILPOT et J. ST. L. PHILPOT, *Bioch. J.* 30, 2191 (1936).

⁶ Signalons que dans le cas de $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$, comme dans celui de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, on peut éluer quantitativement le ferment adsorbé par K_2HPO_4 m/20.