

extraits de Lapin sont très semblables à celles que nous avions observées sur des diagrammes d'extraits de muscles de Grenouille (DUBUSSON et JACOB¹); toutefois chez ce dernier animal, elles pouvaient être observées à la force ionique 0,15, alors que, chez le Lapin, nous n'avons pu les mettre en évidence qu'en utilisant une force ionique de 0,35.

Muscles contracturés par le monobromacétate de sodium. - 1 cm³ d'une solution à 15% de monobromacétate de sodium a été injectée dans une des artères iliaques; après une demi-heure environ, les muscles sont rigides; l'autre patte, dont les vaisseaux ont été obturés² reste souple et sert de témoin.

Les extraits de muscles contracturés sont moins concentrés et moins turbides que ceux des muscles témoins. Les différences portent, encore une fois, sur le groupe II. Celui-ci comprend deux gradients (fig. 1C): le plus rapide est assez aigu, relativement peu développé, accompagné de turbidité et légèrement asymétrique; il migre avec une vitesse voisine de celle de la myosine α . Le plus lent est diffus, et son sommet migre avec une vitesse nettement inférieure à celle de la myosine β . L'ensemble représente 20 à 30% des protéines totales de l'extrait, soit très approximativement 1,2 mg N/cm³.

Il y a donc, comme dans le cas du muscle fatigué, une diminution importante de la solubilité des myosines α et β ; toutefois, dans le cas de la contracture monohalogénée, la composante α serait moins affectée tandis que, au contraire, la bande diffuse contiendrait moins de myosine β . Une action directe du monobromacétate sodique sur les protéines musculaires est peu probable: l'addition de 1,5% de monobromacétate à un extrait «normal» (durée d'action 12 heures) n'en modifie pas la composition.

En conclusion: les principales fractions de la myosine (myosines α et β de DUBUSSON) sont toutes deux entreprises lorsqu'on soumet un muscle à une excitation extrême ou à la contracture monohalogénée. Leurs variations, toujours considérables, n'évoluent toutefois pas de façon absolument parallèle, ce qui impliquerait une espèce de spécialisation fonctionnelle pour chacune d'elle.

J. JACOB

Laboratoire de biologie générale, Faculté des sciences, Université de Liège, le 2 avril 1947.

Summary

Rabbit muscular globulins soluble between the ionic strengths 0.15 and 0.35 are, in an almost native state, the α and β myosins of DUBUSSON. The extractability of both, α and β , by salt solutions is greatly reduced when the rabbit muscle has been stimulated to exhaustion or poisoned with the sodium salt of monobromacetic acid till a state of rigor is obtained. This reduction however does not proceed in an absolutely similar way for α and β , indicating probable functional differences between these two myosins. The other soluble muscular proteins are practically not affected, as far as the method permits this to be ascertained.

¹ M. DUBUSSON et J. JACOB, Rev. Can. Biol. 4, 426 (1945); Exper. 1, 273 (1945).

² Cette ischémie, pas plus que l'anesthésie de l'animal, ne modifie les diagrammes «normaux» de façon appréciable.

Sur le rôle des groupes thiol dans la coagulation du plasma sanguin

L'hypothèse que la transformation du fibrinogène en fibrine est accompagnée de l'oxydation de groupes thiol

de la protéine en groupes disulfure a été récemment défendue d'une manière particulièrement frappante par LYONS¹. Suivant cet auteur l'action de la thrombine sur le fibrinogène serait double et s'exercerait en deux étapes. Au cours de la première les groupes -SH «cachés» du fibrinogène seraient mis en évidence. Au cours de la seconde il se formerait à partir d'eux des ponts -S-S- unissant les molécules les unes aux autres. Cette dernière transformation résulterait de l'action de la vitamine K présente dans la thrombine sur les -SH libérés. L'analogie existant à première vue entre le mécanisme de la formation de la fibrine conçue de cette manière et le mécanisme de la kératinisation pourrait indiquer le caractère général de pareil processus et son intérêt pour l'étude cytochimique du mécanisme de l'édification des structures intracellulaires. Cette perspective nous a incité à tenter en premier lieu une vérification du rôle des -SH dans la coagulation du plasma sanguin. Nous avons profité à cet effet de l'expérience acquise au cours de ces dernières années par BACQ, DESREUX et leurs collaborateurs dans l'étude de l'action exercée sur les protéines par de nombreux corps organiques halogénés susceptibles de réagir avec leurs groupes -SH «libres» et «cachés» en donnant naissance à des composés de substitution de type R-S-R' ou en provoquant l'apparition de groupes disulfure (bibliographie dans BACQ²). Parmi les corps de cette catégorie nous avons utilisé l'iodacétamide, la chloropicrine, la sulfone et le sulfure de dichloroéthyle³. Nous avons en outre fait appel à la propriété que possède l'acide maléique de se combiner avec les fonctions thiol des protéines (MORGAN et FRIEDMAN⁴).

Tous ces corps, dissous ou, s'ils sont peu solubles dans l'eau, mis en suspension dans un faible volume de tampon au borate de p_H 8,4 sont ajoutés à du plasma de poule non oxalaté et laissés au contact de celui-ci pendant quelques heures à 20°C. Le plasma ainsi traité et du plasma témoin auquel seul du tampon au borate a été ajouté sont portés à 30°C. Dans ces conditions la coagulation du plasma témoin s'effectue en 30 à 60 minutes. Celle du plasma traité par l'iodacétamide 0,05 M, l'acide maléique 0,1 M, la sulfone et le sulfure de dichloroéthyle est par contre totalement inhibée. Enfin, en présence de chloropicrine, une influence opposée se manifeste: la coagulation se produit en quelques minutes ou même se trouve déjà réalisée pendant le séjour du plasma à la glacière. Les mêmes différences s'observent lorsque de la thromboplastine, préparée suivant la technique de CHARGAFF⁵, est ajoutée aux divers tubes en petite quantité et que le temps de coagulation se trouve ainsi notablement diminué.

L'analyse du mécanisme des deux types d'influences qui peuvent s'exercer ainsi sur la coagulation du plasma total a été ébauchée. Les résultats obtenus jusqu'à présent sont les suivants:

¹ Le blocage des -SH libres et cachés de la thromboplastine par l'iodacétamide ou la chloropicrine, contrôlé par la disparition de toute réaction avec le ferri-cyanure, ne modifie pas son activité de manière appréciable. Ce n'est donc pas à ce niveau qu'agissent les corps étudiés.

¹ R. N. LYONS, Austr. J. exp. Biol. Med. 22, 131 (1944); Nature 155, 633 (1945).

² Z. M. BACQ, Exper. 2, 349, 385 (1946).

³ Nous sommes redevables à M. Z. M. BACQ d'avoir pu utiliser ces divers corps et le prions de trouver ici nos remerciements.

⁴ E. J. MORGAN et E. FRIEDMAN, Biochem. J. 32, 733, 862 (1938).

⁵ E. M. CHARGAFF, H. DAN et A. BENDICH, J. biol. Chem. 145, 593 (1942).

2^o L'action préalable de l'iodacétamide sur du fibrinogène purifié suivant la technique indiquée par LYONS (fibrinogène A) empêche totalement sa coagulation par la thrombine. La thrombine est obtenue par l'action de la thromboplastine en présence d'ions Ca sur de la prothrombine préparée suivant la méthode de FERGUSON¹.

3^o Le fibrinogène A de LYONS, exposé durant quelques minutes en couche mince à des vapeurs de chloropicrine coagule en un gel délicat formé d'un enchevêtrement de fibrilles de fibrine ainsi que le montre l'observation à l'ultramicroscope.

Ces résultats indiquent que les effets observés sur le plasma entier manifestent des influences s'exerçant directement sur le fibrinogène. Ils s'expliquent parfaitement dans le cadre de la théorie de LYONS si nous admettons que les agents inhibiteurs de la coagulation donnent avec les -SH du fibrinogène des composés de substitution et empêchent ainsi la formation de ponts -S-S- entre les molécules alors que la chloropicrine provoque au contraire l'apparition de ces ponts en réagissant avec les -SH libres du fibrinogène tout comme le ferait suivant LYONS la 2-méthyl-1:4-naphtoquinone.

R. JEENER

Laboratoire de physiologie animale, Université de Bruxelles, le 10 avril 1947.

Summary

Coagulation of hen's blood plasma is inhibited by iodacetamid, dichloroethyl sulfide and sulfone, maleic acid; it is accelerated by chloropicrin. The inhibitory action is probably due to the formation of substitution products by reactions between the inhibiting agent and the -SH groups of the fibrinogen. The coagulating action is probably due to the formation of -S-S- bridges between molecules.

¹ J. H. FERGUSON, J. Lab. clin. Med. 24, 273 (1939).

Sur la synthèse de l'aneurine par le bacille tuberculeux¹

Le bacille tuberculeux est autotrophe pour de nombreuses vitamines. Il synthétise la riboflavine^{2, 4}, l'acide *p*-aminobenzoïque^{3, 4}, l'acide pantothénique⁴, l'acide nicotinique⁴, la biotine^{4, 5}, la vitamine K⁶, les facteurs B₁₀ et B₁₁⁷ et la vitamine Bc⁴.

Notre étude a porté sur la recherche et le dosage de l'aneurine dans les filtrats de cultures de bacilles tuberculeux.

¹ Travail (de l'Institut de bactériologie et d'hygiène de la Faculté de médecine de Lausanne [Directeur: Prof. Dr. P. Hauduroy]) subventionné par le Fonds d'études Roche (Bâle).

² C. H. BOISSEVAIN, W. F. DREA et H. W. SCHULTZ, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 39, 481-483 (1938). — F. ROHNER et F. ROULET, Bioch. Z. 300, 148-152 (1939). — H. R. STREET et R. E. REEVES, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 44, 641-644 (1940).

³ M. LANDY, N. W. LARKUM et E. J. OSWALD, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 52, 338-341 (1943). — T. EKSTRAND et B. SJÖGREN, Nature 156, 476 (1945).

⁴ H. R. BIRD, Nature 159, 33 (1947).

⁵ M. LANDY et D. M. DICKEN, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 46, 449 (1941).

⁶ H. J. ALMQUIST, C. F. PENTLER et E. MECCHI, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 38, 336 (1938).

⁷ R. C. MILLS, G. M. BRIGGS, jr., T. D. LUCKEY et C. A. ELVEHJEM, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 56, 240 (1944).

culeux (humains, bovins, aviaires) et BCG sur milieu synthétique de SAUTON.

Pour éviter toute destruction d'aneurine par autoclavage, nos premières recherches ont été faites sur des filtrats non autoclavés de cultures âgées de quatre à huit semaines, de plusieurs souches de bacilles tuberculeux par le test au thiochrome. Pour enlever des filtrats les substances (riboflavine et autres) dont la fluorescence pouvait gêner la lecture de la fluorescence bleue du thiochrome, nous nous sommes servis de la méthode de KOFLER et STERNBACH¹. Nous avons pu constater dans tous les cas la présence d'aneurine.

Nous avons également employé la méthode de SCHOPFER à l'aide du test *Phycomyces blakesleeanus*, qui nous permettait d'opérer sur des filtrats autoclavés².

Nous avons opéré sur les milieux de cultures de quatre souches de bacilles, à savoir: une souche de bacilles tuberculeux humains (souche virulente A 582 du Centre de Collection de types microbiens de l'Institut de bactériologie de Lausanne), une souche de bacilles bovins (virulents, souche Vallée), une souche de bacilles aviaires (A 17, Institut Pasteur, Paris) et une souche de BCG (Institut Pasteur, Paris), ensemencées huit semaines auparavant dans des ballons contenant chacun 200 cm³ de milieu synthétique de SAUTON. Après avoir séparé par filtration (sur filtre taré) les bacilles que nous avons ensuite lavés, tués par autoclavage, séchés et pesés, nous avons déterminé les quantités de filtrats dont nous avons ajouté pour chacun d'entre eux des doses croissantes (0,1; 0,5; 1; 2; 3; 4 cm³) dans des Erlenmeyers de 150 cm³ en verre d'Iéna, contenant chacun 25 cm³ de milieu synthétique de SCHOPFER.

Après stérilisation, à 115° C pendant 20 minutes, chaque flacon reçoit 0,1 cm³ d'une suspension lavée de spores. Dix jours après, les thalles sont récoltées, desséchés à 100° C et pesés.

Voici les résultats que nous avons obtenus:

Souches	humaine A 582	bovine Vallée	aviaire A 17	BCG
Poids des bacilles secs	1,56 g	1,94 g	1,87 g	0,82 g
Taux d'aneurine en γ/cm ³ de filtrat	0,22 g	0,15 g	0,20 g	0,05 g
Taux d'aneurine dans le filtrat total en γ	30,3 g	18,6 g	27,6 g	6,35 g
Taux d'aneurine en γ, rapporté à 1 g de bacilles secs . .	19,45 g	10,04 g	14,75 g	7,75 g

Ce tableau montre la teneur en aneurine des filtrats de cultures âgées de huit semaines, de trois souches de bacilles tuberculeux et une souche de BCG. Le maximum est obtenu pour la souche humaine A 582.

Au moment de terminer la rédaction de ce travail nous prenons connaissance d'une publication de HILDA POPE et D. T. SMITH (Am. Rev. Tuberculosis 54, 559 (déc. 1946)) où ces auteurs ont dosé l'aneurine.

¹ M. KOFLER et L. STERNBACH, Helv. chim. acta 24, 1014 (1941).

² Nous remercions M. le Prof. SCHOPFER qui a bien voulu mettre à notre disposition une souche de *Phycomyces blakesleeanus*. Nous sommes redevables des substances biochimiques utilisées à la Maison F. Hoffmann-La Roche & Cie S.A. (Bâle).