

L'administration de propylthiouracile pendant une période de 15 jours est suivie d'un léger accroissement du poids, de l'azote protéique et de l'A.P.N. alors que l'A.D.N. reste sensiblement invariable. Il y a lieu d'admettre, dans ce cas, tout au plus un accroissement de la masse cytoplasmique.

L. MANDEL, M. JACOB et P. MANDEL

Institut de chimie biologique, Faculté de médecine, Université de Strasbourg, le 10 juillet 1952.

### Zusammenfassung

Die Milz reichert sich nach Einwirkung von Schilddrüsenhormon an beiden Nukleinsäuren an. Dies zeigt sowohl eine Zunahme des aktiven Zytoplasmas sowie der Zellkerne an. Während derselben Versuchsdauer bewirkt Propylthiourazil eine leichte Zunahme des aktiven Zytoplasmas. Die Wirkung der Thyroidektomie ist derjenigen des Schilddrüsenhormones entgegengesetzt. Die Schilddrüsenhormone und die Thyroidektomie scheinen sich besonders auf die Desoxy-pentosenukleinsäure auszuwirken.

### Sur la L-aminoacideoxydase de nombreux invertébrés marins

L'analyse chromatographique sur papier d'extraits d'organes provenant de multiples invertébrés marins (mollusques, crustacés, annélides, géphyriens, échinodermes) a montré que les tissus de la plupart de ces animaux renferment de l'arginine associée aux acides  $\delta$ -guanido- $\alpha$ -cétovallérianique et  $\gamma$ -guanidobutyrique<sup>1</sup>. La présence de ces corps paraît devoir être reliée à un type de métabolisme de l'arginine différent de celui auquel participe l'arginase chez de nombreux vertébrés. Les homogénéisats d'hépatopancréas de moule (*Mytilus edulis* L.) oxydent en effet cet acide aminé en donnant naissance successivement à l'acide  $\delta$ -guanido-

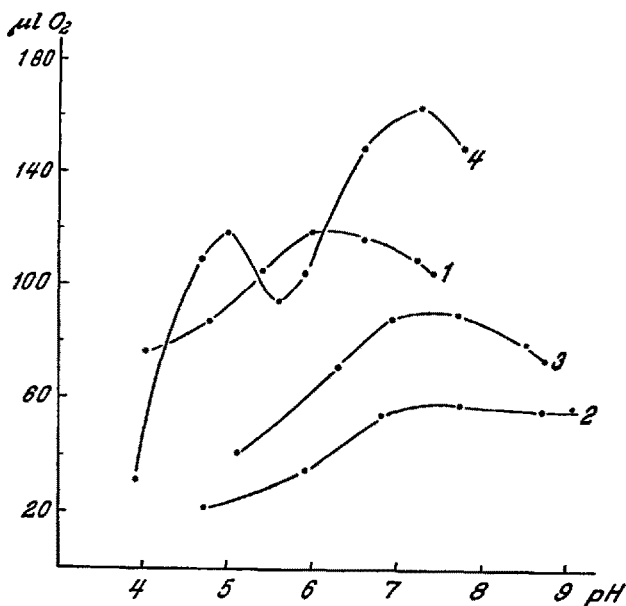


Fig. 1. Oxydation en fonction du pH de la L(+)-arginine par des préparations d'hépatopancréas de 1° *Sepia officinalis* L., 2° *Aplusia* sp., 3° de tractus intestinal de *Paracentrotus lividus* Lmk, 4° *Marthasterias glacialis* L. Abscisses: pH; Ordonnées: µl O<sub>2</sub> fixés.

<sup>1</sup> Le cas de nombreux annélides présente des particularités sur lesquelles nous reviendrons avec I. GARCIA.

$\alpha$ -cétovallérianique, à un corps intermédiaire non encore défini, et à l'acide  $\gamma$ -guanidobutyrique<sup>1</sup>. La L-aminoacideoxydase étant sans action sur l'arginine dans les tissus des vertébrés supérieurs<sup>2</sup>, il convenait de rechercher si elle présente des caractères particuliers chez les invertébrés, comme on l'a déjà observé dans les venins des reptiles (L-ophioaminoacideoxydase)<sup>3</sup>. Le but de cette note est de résumer le travail que nous avons poursuivi à ce sujet sur des organes de divers animaux marins.

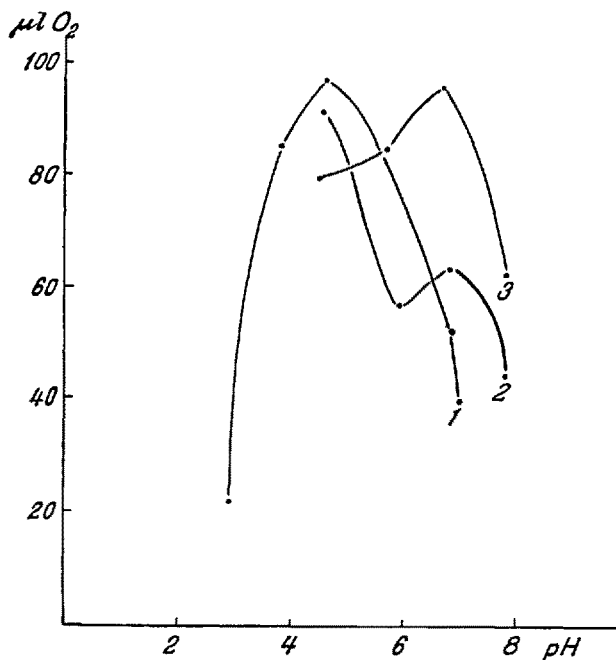


Fig. 2. Oxydation de la L(+)-arginine en fonction du pH par des préparations d'hépatopancréas de *Mytilus edulis* L. en l'absence (courbes 1 et 2) ou en la présence de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (courbe 3).

Abscisses: pH; Ordonnées: µl O<sub>2</sub> fixés.

L'hépatopancréas (*Mytilus edulis* L., *Sepia officinalis* L., *Aplysia* sp.) ou le tractus digestif (*Paracentrotus lividus* Lmk., *Marthasterias glacialis* L.), broyés en présence d'un volume et demi d'eau distillée (waring blender) ont été centrifugés pendant 15 à 20 min à 18000 t./min et l'on a répété deux fois cette opération. Le résidu des lavages renferme l'enzyme. Il a été mis en suspension dans de l'eau et l'on a étudié son activité oxydasique vis-à-vis de l'arginine et de divers acides aminés, en mesurant au moyen de l'appareil de WARBURG l'oxygène consommé par le milieu suivant: 0,3 ml de solution 0,5 M de mélange tampon de phosphates alcalins ou acéto-acétique de divers pH + 0,3 ml de substrat 0,1 M + 0,5 ml de suspension d'enzyme + eau distillée, q.s.p. 2,9 ml ( fioles de WARBURG garnies de 0,1 ml de potasse à 20 %, mesures faites après 10 min d'oxygénation). Des essais ont été poursuivis à des pH compris entre 2,9 et 9,1, en la présence ou en l'absence d'azide de sodium 0,01 M. Les résultats obtenus en prenant l'arginine comme substrat de l'oxydation ont permis d'établir des courbes dont les figures 1 et 2 donnent des exemples.

<sup>1</sup> Ces données ont été établies au cours de recherches dont les résultats paraîtront prochainement [J. ROCHE, NGUYEN-VAN THOAI, Y. ROBIN, Biochim. Biophys. Acta (sous presse)].

<sup>2</sup> M. BLANCHARD, D. E. GREEN, V. NOVITO et S. RATNER, J. Biol. Chem. 155, 421 (1944); 161, 583 (1945).

<sup>3</sup> E. A. ZELLER, A. MARITZ et B. ISELIN, Helv. chim. Acta 28, 1615 (1945).

Le pH optimum de l'action enzymatique est le plus souvent voisin de 6,8 à 7,2 (courbes 2 et 3, fig. 1), comme celui de la L-ophioaminoacidoxydase. Dans certains cas, un second pH optimum se manifeste vers pH 5,0 (courbe 2, fig. 2) ou 6,0 (courbe 1, fig. 1). Ces discordances sont dues à l'interférence d'une action catalasique dont l'inhibition par l'azide de sodium (courbe 3, fig. 2) rétablit un pH optimum unique de l'oxydation de l'arginine, à pH 6,8 à 7,2. L'inhibition de la catalase étant plus rapide aux pH inférieurs à 6,0, la consommation de l'oxygène apparaît alors, en effet, comme plus importante à ceux-ci, en raison du ralentissement de la dégradation des peroxydes.

Des essais analogues poursuivis sur le foie d'un téléostéen (*Mullus barbatus* L.) ont montré que l'extrait de cet organe n'oxyde pas l'arginine, tandis que ceux du foie d'un chélonien (*Thalassochelys caretta* L.) et ceux d'un protochordé (*Glossobalanus sarniensis* Koehler) réalisent l'oxydation du même acide aminé.

Nous avons cherché à séparer l'enzyme par centrifugation fractionnée et par autolyse. Dans le premier cas, l'homogénéisat d'hépto-pancréas de moule a été lavé 4 fois à l'eau avec centrifugation de 10 min à 6000 t./min, puis 3 fois à 2000 t./min. Les eaux de lavage des trois dernières opérations ont été réunies et centrifugées 15 min à 6000 t./min; le culot obtenu, mis en suspension dans l'eau, présentait une activité oxydasique vis-à-vis de l'arginine se traduisant par la fixation de  $10 \mu\text{l O}_2/\text{h}/\text{mg}$ . Il en est de même du résidu de digestion trypsique de l'homogénéisat d'hépto-pancréas (3 jours à 37°, pH 8,0, en présence d'1 % de trypsine non fractionnée), lavé à l'eau. Cette activité enzymatique est faible<sup>1</sup>, mais présente des caractères constants d'une préparation à l'autre.

L'enzyme étudié n'est inhibé ni par les cyanures alcalins, ni par l'alcool octylique, ni par l'acide salicylique, alors que la L-aminoacidoxydase brute des mammifères l'est par les deux premiers. Ce dernier enzyme purifié<sup>2</sup> et celui des venins des serpents<sup>3</sup> sont également insensibles aux cyanures, mais le second est, en outre, inhibé par l'acide salicylique. La spécificité de la L-aminoacidoxydase des invertébrés étudiés et celle de l'enzyme des mammifères présentent des différences importantes. En prenant comme référence  $Q_{O_2}/\text{h}$  de son activité sur la L(+)-arginine ( $Q_{O_2}/\text{h} = 100$ ), celle qu'elle exerce sur divers acides aminés présente les valeurs suivantes :

Glycocolle . . . . .	0	L(-)-proline . . . . .	0
L(-)-leucine . . . . .	137	L(-)-histidine . . . . .	120
DL-sérine . . . . .	0	L(-)-ornithine . . . . .	139
L(-)-tryptophane . . . . .	117	L(-)-citrulline . . . . .	123
acide L(+)-glutamique . . . . .	0	L(+)-arginine . . . . .	100
acide L(-)-aspartique . . . . .	0		

Contrairement à l'enzyme des mammifères, lequel oxyde la proline mais non l'arginine, l'ornithine et la lysine, la L-aminoacidoxydase des invertébrés étudiés dégrade les trois derniers acides aminés et la citrulline sans être active sur la proline. La L-ophioaminoacidoxydase présente à cet égard un comportement irrégulier, sauf en ce qui concerne la dégradation de l'arginine.

<sup>1</sup> Les préparations obtenues sont constituées par de minimes quantités de L-aminoacidoxydase fixées à de petits débris cellulaires; l'enzyme est en effet saturé par le substrat à des concentrations très faibles en celui-ci (0,0016 M).

<sup>2</sup> M. BLANCHARD, D. E. GREEN, V. NOVITO et S. RATNER, J. Biol. Chem. 155, 421 (1944); 161, 583 (1945).

<sup>3</sup> E. A. ZELLER, A. MARITZ et B. ISELIN, Helv. chim. Acta 28, 1615 (1945).

Les faits observés paraissent comporter une signification phylogénétique, en ce sens que de nombreux invertébrés renferment dans leur tractus digestif ou leur hépto-pancréas une L-aminoacidoxydase active sur les acides aminés basiques. Enfin, la répartition de cet enzyme dans le règne animal est, dans une certaine mesure, parallèle à celle d'un type d'excrétion azotée à prédominance ammoniacale; en effet, nous n'avons pu mettre en évidence chez des vertébrés aucun des produits d'oxydation de l'arginine présents dans les tissus de nombreux invertébrés. L'hypothèse d'un rôle important et direct de l'action L-aminoacidoxydasique dans le déterminisme du type d'excrétion azotée de nombreux invertébrés, animaux en général ammoniotéliques, mérite donc d'être retenue.

J. ROCHE, NGUYEN-VAN THOAI et P. E. GLAHN

Laboratoire de biologie marine du Collège de France, Concarneau (Finistère), le 1<sup>er</sup> septembre 1952.

### Summary

The tissues of numerous marine invertebrates of various zoological groups contain an L-aminoacidoxydase different to that of many vertebrates (apart from the L-ophioaminoacidoxydase). This enzyme acts on the basic amino acids, especially on arginine; it metabolizes the latter according to a process different to that common to vertebrates, based on arginase action. The presence of  $\alpha$ -keto- $\delta$ -guanidovaleic and  $\gamma$ -guanidobutyric acids in the tissues of various invertebrates is due to this metabolic decomposition of arginine.

### Inhibition of Fermentation by X-rays in Normal and Low Nitrogen Yeast<sup>1</sup>

Fermentation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae* was shown previously<sup>2</sup> to be interfered with by X-rays only when the yeast had been grown in a synthetic medium. When this strain of yeast was grown in nonsynthetic medium containing peptone and yeast extract, fermentation was not inhibited by doses up to  $10^6$  r. These results suggested that organic nitrogenous compounds were in some way able to protect fermentation enzymes from the action of X-rays. In the experiments reported here, yeast cultures were grown in synthetic media having different concentrations of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  to obtain additional information concerning the factors which regulate the *in vivo* sensitivity of these enzymes to X-radiation.

The yeast was grown in the synthetic medium of ATKIN *et al.*<sup>3</sup>, which was modified by omitting the peptone and adding varying amounts of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . The cells were washed in phosphate buffer (pH 4.5) and made up to standard density in the same buffer. Irradiation was carried out in pyrex test tubes with a therapy tube operated at 100 kV and 10 mA. The dose rate was between 1200 and 1300 r/min. After irradiation the cell suspensions were incubated for 3–4 h at 30°C. Fermentation of glucose was estimated by the standard WAR-

<sup>1</sup> Supported in part by a grant from the American Cancer Society recommended by the Committee on Growth of the National Research Council.

<sup>2</sup> F. G. SHERMAN and H. B. CHASE, J. Cell. Comp. Physiol. 33, 17 (1949); 34, 207 (1949).

<sup>3</sup> L. ATKIN, P. GRAY, W. MOSES, and M. FEINSTEIN, Biochem. Biophys. Acta 3, 692 (1949).