

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'hépatopancréas 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 μ l O₂/h/mg. Il en est de même du résidu de digestion trypsique de l'homogénéisat d'hépatopancréas (3 jours à 37°, pH 8,0, en présence d'1 % de trypsine non fractionnée), lavé à l'eau. Cette activité enzymatique est faible¹, 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 purifié² et celui des venins des serpents³ 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_{O₂}/h de son activité sur la L(+)-arginine (Q_{O₂}/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.

¹ 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).

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

³ 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 hépatopancréas 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^{er} 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 α -keto- δ -guanidovaleic and γ -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 Yeast¹

Fermentation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae* was shown previously² 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 10⁶ 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 (NH₄)₂SO₄ 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.*³, which was modified by omitting the peptone and adding varying amounts of (NH₄)₂SO₄. 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-

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

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

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

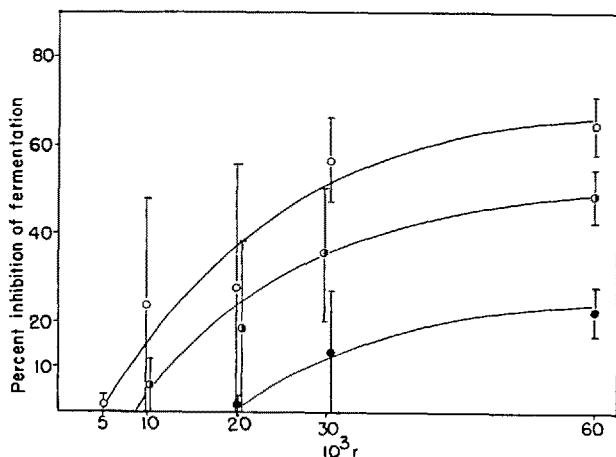
BURG manometric technique and the total nitrogen content of the cells determined by the micro-Kjeldahl method. Nonirradiated cell suspensions, otherwise treated exactly the same as the irradiated cell suspensions, served as controls.

When yeast cells are grown in a medium containing small amounts of ammonium sulfate the total nitrogen content of the cells and their ability to ferment glucose is markedly reduced (Table). It is of interest to note that the respiratory enzymes are not appreciably affected under these conditions.

Total nitrogen, $Q_{CO_2}^N$, and Q_{O_2} of *S. cerevisiae* grown in synthetic medium containing different amounts of $(NH_4)_2SO_4$

Conc. of $(NH_4)_2SO_4$ in medium g/l	Total N of yeast cells ¹ %	$Q_{CO_2}^N$	Q_{O_2}
0.01	4.27 ± 0.35	57	48
0.1	5.25 ± 0.42	85	45
1.0	9.3 ± 1.1	190	52

These data confirm DE LEY's² observations on *Escherichia coli* that the synthesis of the enzyme complex associated with glucose fermentation is dependent upon the amount of nitrogen available to the cells, whereas the respiratory enzymes are synthesized in preference to some other proteins.



Percent inhibition of fermentation at various doses of X-rays in yeast grown in media containing different amounts of $(NH_4)_2SO_4$. Open circles, half solid circles and solid circles refer to yeast grown in media containing 0.01, 0.1, and 1 g $(NH_4)_2SO_4$ /liter respectively. The vertical lines give the range of variation observed.

The percentage inhibition of glucose fermentation at several doses of X-radiation is shown in the Figure for yeast grown in media containing different amounts of nitrogen. The intervals indicated give the range of values observed for six experiments at each dose level. In spite

of the large variation between individual experiments at the lower dose levels, the data suggest that fermentation is inhibited by lower doses of X-radiation in low nitrogen yeast than in normal yeast. At the higher doses, the difference between normal and low nitrogen yeast is clearly indicated.

The experiments reported here may be explained in terms of the relative amount of irreparable damage to the fermentation enzymes. If the probability for an enzyme to be inactivated by a given dose of X-radiation is of the same order of magnitude in normal and low nitrogen yeast it is evident from the Table that a much larger fraction of the enzymes associated with fermentation will be inhibited in the low nitrogen yeast. The values observed for inhibition of fermentation at 30,000 and 60,000 r agree satisfactorily with those estimated on the basis that the fermentation enzymes have the same likelihood of being inactivated in normal and low nitrogen yeast. However, at dose levels of 10,000 and 20,000 r there is almost no measurable inhibition of fermentation by normal yeast, while in some experiments, at least, there is an appreciable inhibition in both groups of the low nitrogen yeast. These data suggest that the fermentation enzymes of low nitrogen yeast are more sensitive to the effects of X-rays than they are in normal yeast. If this is true, the argument advanced above in explanation of the experiments at 30,000 and 60,000 r appears to be inadequate. An acceptable explanation must take into account the fact that the sensitivity of these enzymes to X-rays is different in normal and low nitrogen yeast. The wide variety of chemical compounds which can protect against radiation effects¹, suggest that the normal yeast in these experiments may produce organic nitrogenous compounds in amounts sufficient to confer protection. This explanation would demand that these hypothetical protective agents are not able to be produced by low nitrogen yeast except in amounts too small to give protection. This concept is supported by the earlier observation from this laboratory² that the fermentation enzymes of yeast grown in medium containing peptone were not inactivated even by doses of X-radiation of 10^6 r.

F. G. SHERMAN

Department of Biology, Brown University, Providence, Rhode Island, July 7, 1952.

Zusammenfassung

Hefezellen, die in einem synthetischen Substrat mit verschiedenen Mengen von $(NH_4)_2SO_4$ (mit Phosphatpuffer) kultiviert worden waren, wurden bestrahlt (100 kV Röntgenstrahlen). Darauf wurde die Gärung von Glukose manometrisch bestimmt. Die in einem wenig Stickstoff enthaltenden Milieu kultivierte Hefe hatte einen verminderten Stickstoffgehalt und ein erniedrigtes $Q_{CO_2}^N$. Die Gärung solcher Hefe war nach Einwirkung kleiner Strahlendosis geringer als die Gärung normaler Hefe. Das Gärungsvermögen von Hefe mit erniedrigtem Stickstoffgehalt wurde durch eine Strahlendosis von 30 000 und 60 000 r stärker herabgesetzt als die Gärung normaler Hefe.

¹ Z. M. BACQ, Exper. 7, 11 (1951). – A. HOLLAENDER, G. E. STAPLETON, and W. T. BURNETT, Ciba Foundation Conference on Isotopes in Biochemistry, 1951, pp. 96–109.

² F. G. SHERMAN and H. B. CHASE, J. Cell. Comp. Physiol. 33, 17 (1949).

¹ Calculated on a dry basis.

² J. DE LEY, Arch. Biochem. 20, 251 (1949); *Over de fermenten van stickstof-arme Bacterium coli* (Doctoral thesis). Uit de Verhandelingen van de Koninklijke Vlaamse Academie voor Geneeskunde van België, 1949, XI. – No. 3 (Gent, 1949).