

Fractionnement par ultracentrifugation d'une nucléoprotéine de thymus de veau présentant une résistance marquée à la déprotéinisation

L'étude par ultracentrifugation de la dissociation des nucléoprotéines en solution molaire a fait l'objet de nombreux travaux¹ et l'on admet en général qu'il y a scission entre l'acide nucléique et l'histone à cette concentration ionique. Cependant les auteurs ne sont pas d'accord sur le degré de dissociation notamment dans le cas de la nucléohistone de thymus de veau où des valeurs très diverses ont été avancées (de 30%² à 100%³). Un cas de non dissociation de nucléoprotéine isolée de noyaux de foie de rat a même été signalé⁴.

Au cours de nos recherches, nous avons eu l'occasion de préparer une nucléoprotéine de thymus de veau à partir d'un organe prélevé très tôt après la mort de l'animal et cette nucléoprotéine présentait une résistance tout à fait remarquable à la déprotéinisation par saturation avec du chlorure de sodium⁵. Cette nucléoprotéine, extraite de glandes obtenues moins d'une heure après la mort de l'animal, avait été purifiée aussi rapidement que possible pour la débarrasser des enzymes cellulaires puis avait été dissoute en solution molaire et saturée avec du sel. Cette solution résultante était si stable qu'il ne se faisait pas de précipitation d'histone dans le milieu. Par dilution à concentration isotonique en sel, un complexe nucléoprotéique précipitait et cela encore 2 mois après saturation. En opposition, lorsque nous avons traité au chlorure de sodium saturé pour la déprotéiniser une nucléohistone préparée dans les mêmes conditions que précédemment, mais à partir de glandes obtenues 2 h après la mort de l'animal, l'histone en solution saturée commençait à précipiter dès les premiers jours qui suivaient le contact avec le sel et après deux semaines il n'était plus possible d'obtenir de nucléoprotéine par dilution en milieu isotonique.

A la suite de cette observation il nous a paru intéressant d'étudier le comportement à l'ultracentrifugation de cette nucléoprotéine douée d'une si remarquable résistance à l'action du ClNa en solution saturée. Nous avons trouvé après ultracentrifugation que cette nucléoprotéine présente encore, en milieu salin, un certain degré de dissociation et les dosages chimiques, qui ont été effectués sur les diverses fractions séparées (notamment sur un surnageant obtenu après 3 h de centrifugation à 145 000 G), ont montré que la fraction protéique d'une telle nucléoprotéine est hétérogène. Ce surnageant était à peu près totalement dépourvu de phosphore et renfermait une fraction protéique dont la relation N arginine/N protéique (= 8,1%) est de beaucoup inférieure à celle d'une histone (= 25%). Cette fraction protéique nous semble-t-il, peut représenter soit une partie de l'histone pauvre en arginine et riche peut-être en

lysine⁶ soit une simple contamination cytoplasmique. En admettant une répartition homogène dans le liquide centrifugé, nous avons pu calculer que cette fraction protéique pauvre en arginine renfermait 26,3% de l'azote total protéique contenu dans notre solution de nucléoprotéine en expérience.

Par ailleurs nous avons noté que la répétition du processus de dissolution en milieu ClNa 1 M suivi de précipitation en milieu physiologique (0,14 M) qui s'accompagne habituellement d'une légère déprotéinisation a un effet encore moins marqué dans le cas de la nucléoprotéine résistante à l'action des fortes concentrations salines.

T. SAKAKI⁷, A. KNOBLOCH et
R. VENDRELY

Laboratoire de Recherches sur les Macromolécules,
Strasbourg, France, le 26 juin 1956.

Summary

Concerning the degree of resistance to strong saline solution, differences are noted between the nucleoproteins extracted from calf thymus received very soon after the death of the animal (resistant nucleoproteins) and nucleoproteins of calf thymus received later (susceptible nucleoproteins).

⁶ P. F. DAVISON et J. A. V. BUTLER, *Biochim. biophys. Acta* 15, 439 (1955).

⁷ Boursier du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. Adresse actuelle: Faculté des Sciences de l'Université de Nagoya, Chikusa, Nagoya (Japon).

Variations de l'activité des auxines-oxydases dans les racines du *Lens*¹

Introduction. L'activité des auxines-oxydases dans les racines du *Lens culinaris* Med. a été analysée dans des travaux antérieurs² où nous établissions les relations entre ces enzymes et les peroxydases, la genèse des peroxydes et les auxines dont l'étude, sur le même matériel, avait fait l'objet de diverses publications³. Cette présente note a pour but d'examiner l'action de quelques substances (2-4, dichlorophenol: DCP, 2-4, dinitrophenol: DNP, 2-4, dinitro-*o*-cresol: DNC et $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O} \cdot \text{Mn}^{++}$) sur la destruction de l'acide β -indolylacétique (ABIA).

Technique. Les plantules du *Lens* sont cultivées aseptiquement sur papier filtre sans cendre, en boîtes de PETRI (obscurité, $20^\circ \pm 0,5$). Lorsque leurs racines mesurent $18 \text{ mm} \pm 0,5$ (200 sont employées pour chaque essai), les tissus sont broyés (-16°) avec une solution tampon $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{PO}_4$, $5,10^{-2} \text{ M}$ (pH 6,1), puis centrifugés (15 min; 4000 g) et décantés (10 ml). L'analyse du contenu en protéines N, basée sur l'emploi de l'acide trichloroacétique (précipitation), $\text{H}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ (digestion), se fait par la méthode de NESSLER. Pour évaluer l'activité des auxines-oxydases (exprimée en microgrammes d'ABIA détruit pour 0,1 mg de protéines

¹ Cf. P. F. DAVISON, B. E. CONWAY et J. A. V. BUTLER, *Progr. Biophys.* 4, 148 (1954).

² Q. VAN WINKLE, données non publiées, citées par: J. G. RABATIN, R. FRIEDLAND et W. J. FRAJOLA, *J. biol. Chem.* 203, 23 (1953).

³ P. ex. A. E. MIRSKY et A. W. POLLISTER, *J. gen. Physiol.* 30, 117 (1946).

⁴ J. M. LUCK, D. W. KUPKE, A. RHEIN et M. HARD, *J. biol. Chem.* 205, 235 (1953).

⁵ Voir à ce propos l'observation de S. ZAMENHOF, G. GRIBOFF et N. MARULLO, *Biochim. biophys. Acta* 13, 459 (1954). Ces auteurs ont signalé eux aussi que les nucléoprotéines, isolées de thymus prélevés rapidement après la mort de l'animal, montraient une résistance plus marquée à la déprotéinisation.

¹ Ce travail a pu être entrepris grâce à l'appui du *Fonds national suisse pour la Recherche scientifique*.

² P. E. PILET et A. W. GALSTON, *Physiol. Plant.* 8, 888 (1955). – P. E. PILET, *Act. Soc. helv. Sci. nat.* 135, 133 (1955).

³ P. E. PILET, *Mem. Soc. vaud. Sci. nat.* 64, 137 (1951); *Exper.* 7, 362 (1951); *Phyton (Austria)* 4, 247 (1953); *Rev. gén. Bot.* 61, 637 (1954). – P. E. PILET et F. W. WENT, *Amer. J. Bot.* 43, 190 (1956).