

The content of the aromatic amino acids, especially tyrosine, in the lysine-rich fraction of the calf thymus histone being several times lower than the content of the arginine rich fraction, the ratio between optical density (measured at 276 m μ – density maximum of histone – in 10 mm silica cells) and nitrogen content of the solution could be used as criterion for fraction distribution in samples of isolated histones. Growth of the value of this ratio in individual samples, obtained by successive acid extractions, was observed, following every subsequent extraction. This indicates that in the first extraction the tyrosine-poor (lysine-rich), in the last extractions the tyrosine-rich (arginine-rich) fraction of histone predominates. In Figure 2 these ratios for different types of isolation are expressed graphically.

The content of aromatic amino acids in single extractions obtained by the method described above, expressed as the ratio between E_{276} and N, seems to suggest the stronger binding of arginine – and tyrosine – rich fraction on DNA. Similar results have been obtained by dissociation of different histone fractions from calf thymus deoxyribonucleoprotein in changing the concentration of Ba[OAc]₂ and ethanol⁸.

The extraction with 0.1 N HCl is more specific for preparing calf thymus histones richer in one of the two main fractions (Fig. 1, 2). The fractionating effect of the extraction with diluted sulphuric acid was used for preparation of the two main fractions of calf thymus histone by U1⁴, but the use of the SO₄ ions brings about the aggregation of arginine-rich histones and therefore it is better to replace these by the Cl ions.

By the extraction of the protein-containing material prepared according to SEVAG *et al.*⁷ from calf thymus nuclei with 0.1 N HCl, the greater part of the acid-soluble protein is extracted by the first and by the second extraction. The fractionation effect of this subsequent extraction is therefore very low. In course of the preparation of the deoxyribonucleoprotein by extraction of calf thymus nuclei with 1 M NaCl, or in course of the treating of this deoxyribonucleoprotein with the mixture of chloroform and *n*-butanol (according to SEVAG *et al.*), part of the lysine-rich (tyrosine-poor) fraction disappeared, as can be seen in Figure 2.

L. HNILICA

Oncological Research Institute, Bratislava (Czechoslovakia), November 24, 1958.

Zusammenfassung

Bei der Extraktion von Zellkernen mit Hilfe verdünnter Salzsäure ändert sich die Zusammensetzung einzelner Extrakte in Abhängigkeit von der Konzentration der benutzten Säure. Die Fraktion des Kalbsthymushistons, die an Arginin und Tyrosin reich ist, scheint an die Desoxyribonukleinsäure des Zellkerns fester gebunden zu sein als die zweite, an Tyrosin arme und an Lysin reiche Fraktion.

⁸ CH. F. CRAMPTON, J. *biol. Chem.* 227, 495 (1957).

Action d'un hépatome ascitique du rat sur les acides nucléiques du pancréas et du rein¹

Au cours de travaux antérieurs^{2,3}, nous avons étudié l'effet de la présence d'un hépatome ascitique sur les acides ribo- et désoxyribonucléiques (A.R.N. et A.D.N.) du foie et des surrénales du rat. Il s'est avéré que l'incorporation du ³²P dans l'A.R.N. et la quantité absolue de ce constituant augmentent aussi bien dans le foie que dans les surrénales. Un accroissement de la biosynthèse de l'A.D.N. a été observé seulement dans le tissu hépatique. Il nous a paru intéressant de rechercher dans des conditions expérimentales similaires les modifications éventuelles au niveau du pancréas et du rein.

Nos essais ont porté sur des rats blancs de souche Wistar groupés en lots du même sexe et de la même portée. Dans chaque lot, la moitié des rats a reçu une injection intrapéritonéale de 1 cm³ de liquide d'ascite qui provoque l'apparition d'une abondante ascite⁴ au bout de 5 jours. Les rats sont alors sacrifiés par saignée 24 h après l'injection intra-musculaire de 100 μ C de ³²P par 100 g de poids corporel.

Les organes sont prélevés rapidement, pesés et traités selon les techniques décrites ailleurs pour la détermination de la quantité d'A.R.N. et d'A.D.N., de leurs activités spécifiques et de celle du PO₄ acido-soluble².

Les essais concernant les modifications au niveau du pancréas ont porté sur 46 rats groupés en 5 lots, dont 23 témoins. Pour le rein, nous avons effectué 6 expériences sur 24 rats dont 12 témoins.

Les résultats de nos essais sont résumés dans les graphiques I et II.

Nous y avons consigné les quantités de protéines, de phosphore ribonucléique, de phosphore désoxyribonucléique, l'activité spécifique (A. S.) du PO₄ acido-soluble, l'activité du ³²P incorporé dans l'A.R.N. rapportée à l'A.S. du PO₄ ainsi que l'A.S. de l'A.D.N. pour le pancréas. Nous n'avons pas présenté les valeurs d'A.S. de l'A.D.N. du rein qui sont très faibles chez les témoins comme chez les porteurs d'hépatomes. Pour l'expression de l'incorporation du ³²P dans l'A.R.N., il nous a paru utile de tenir compte de la quantité totale du ³²P retrouvé dans l'A.R.N. et de la rapporter à l'A.S. du PO₄ acido-soluble du tissu car ainsi la comparaison entre témoins et animaux en expérience est plus rigoureuse.

Il ressort de l'examen des graphiques que, dans le cas du rein, on n'observe aucune variation des quantités de protéines, d'A.D.N. et du quotient

³²P incorporé dans l'A.R.N.

A. S. PO₄

chez les animaux porteurs de tumeur. En ce qui concerne la quantité d'A.R.N., les différences ne sont pas significatives. Au niveau du pancréas les quantités absolues de protéines et d'A.R.N. restent également inchangées alors

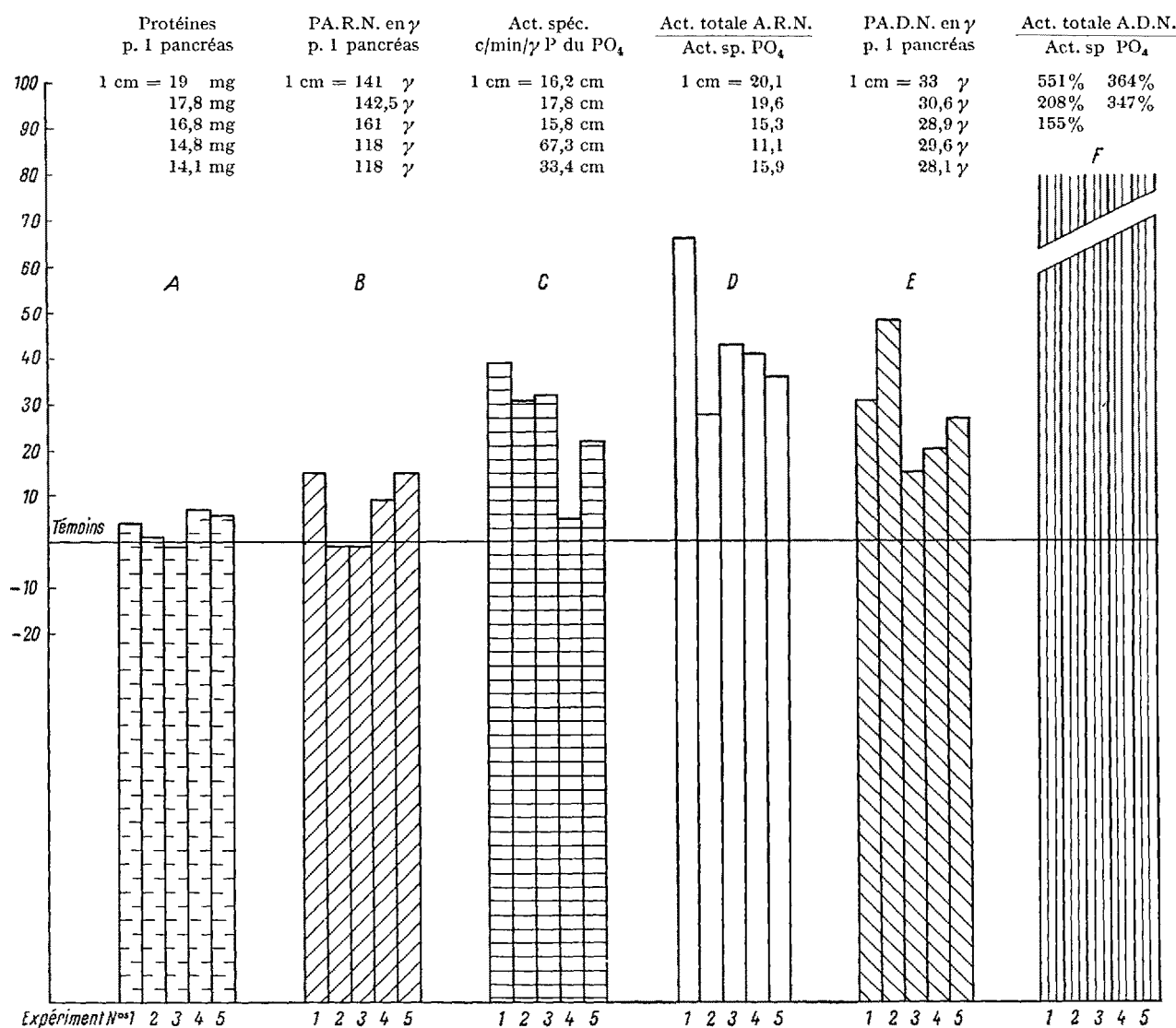
¹ Travail effectué avec l'aide matérielle de l'Institut National d'Hygiène.

² M. WINTZERITH, L. MANDEL et P. MANDEL, C. R. Soc. Biol. 151, 2199 (1957).

³ L. MANDEL, M. WINTZERITH et P. MANDEL, J. Physiol. 50, 401 (1958).

⁴ Nous devons la souche d'hépatome ascitique à l'obligeance de M. ZAJDELA de la Fondation Curie, que nous remercions très-vivement.

Fig. 1. Influence d'un Hépatome Ascitique sur les Acides Nucléiques du Pancréas chez le Rat blanc



Graphique 1. La ligne horizontale à 100 mm de l'axe des abscisses sur le graphique original, représente les valeurs des témoins, les colonnes les valeurs relevées chez les animaux porteurs de tumeur. Chaque colonne correspond à une expérience portant sur 9 rats. L'échelle permettant de retrouver les valeurs expérimentales est consignée au-dessus de chaque colonne. La hauteur de la colonne au-dessus de la ligne horizontale fournit les différences en pour cent par rapport aux témoins. Les valeurs de protéines (A), d'acide ribonucléique (B) et d'acide désoxyribonucléique (E) expriment les quantités absolues pour 1 pancréas. Le groupe de colonnes D et F exprime le nombre de coups/min de la totalité de l'acide ribonucléique (D) et de l'acide désoxyribonucléique (F) soit la totalité de ^{32}P incorporé rapportée à l'activité spécifique du PO_4 acido-soluble.

que la quantité totale de ^{32}P incorporé dans l'A.R.N. et l'A.D.N. rapportée à l'A.S. du PO_4 acido-soluble est nettement augmentée. Notons que dans aucun cas, nous n'avons trouvé de métastase.

Ainsi, parmi les divers organes que nous avons étudiés, on peut distinguer deux catégories, d'une part le pancréas ainsi que le foie et les surrénales étudiés antérieurement^{2,3}, qui manifestent un accroissement net de l'activité métabolique de l'A.R.N. et même de l'A.D.N., d'autre part le rein qui ne subit aucun changement.

Nous avons déjà attiré antérieurement l'attention sur la labilité de l'A.R.N. et de l'A.D.N. du pancréas et des surrénales⁵. De même l'activité métabolique de l'A.R.N. du foie est très supérieure à celle du rein; il semble donc que la présence d'une tumeur se manifeste avant tout au niveau des tissus prédisposés naturellement à une grande activité métabolique.

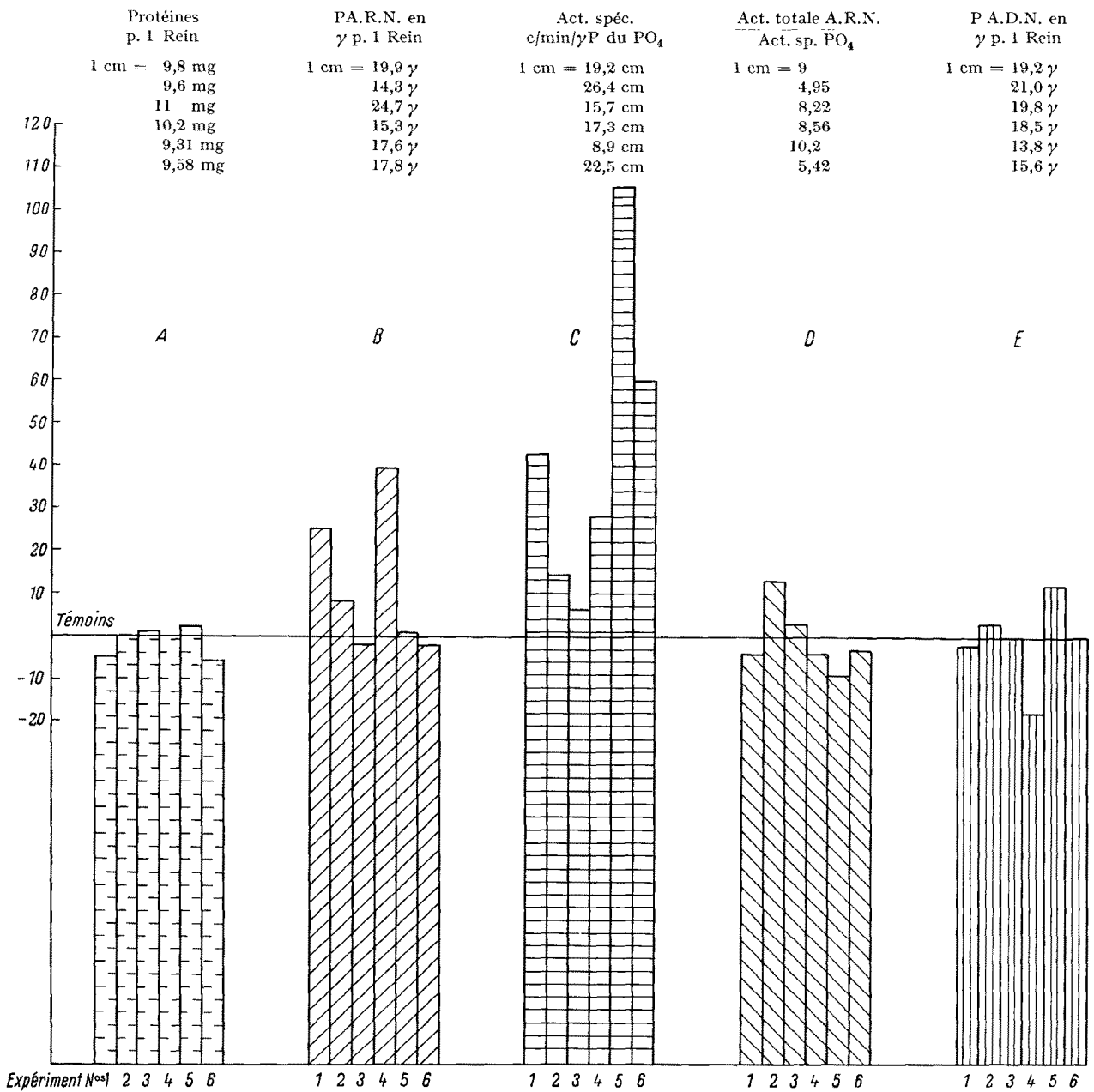
KELLY *et al.*⁶ avaient déjà signalé un accroissement de l'A.S. de l'A.D.N. chez des souris porteuses d'un carcinome mammaire et chez des rats auxquels on avait greffé des lymphosarcomes. De même, KHOUVINE⁷ avait constaté une augmentation de l'A.S. de l'A.R.N. du foie chez des animaux porteurs d'un épithélioma atypique. Diverses hypothèses pourraient être invoquées pour expliquer les phénomènes observés par les autres auteurs^{6,7} et par

⁵ P. MANDEL, M. JACOB et L. MANDEL, C. R. Acad. Sci., Paris 238, 288 (1954).

⁶ L. S. KELLY, A. H. PAYNE, M. R. WHITE et H. B. JONES, Cancer Res. 11, 694 (1951).

⁷ M. MORTREUIL et Y. KHOUVINE, Bull. Soc. Chim. biol. 39, 161 (1957).

Fig. 2. Influence d'un Hépatome Ascitique sur les Acides Nucléiques du Rein chez le Rat



Graphique 2. La ligne horizontale à 100 mm de l'axe des abscisses sur le graphique original, représente les valeurs des témoins, les colonnes les valeurs relevées chez les animaux porteurs de tumeur. Chaque colonne correspond à une expérience portant sur 4 rats. L'échelle permettant de retrouver les valeurs expérimentales est consignée au-dessus de chaque colonne. La hauteur de la colonne au-dessus de la ligne horizontale fournit les différences en pour cent par rapport aux témoins. Les valeurs de protéines (A), d'acide ribonucléique (B) et d'acide désoxyribonucléique (E) expriment les quantités absolues pour 1 rein. Le groupe de colonne D exprime le nombre de coups/min de la totalité de l'acide ribonucléique (D) soit la totalité de ³²P incorporé rapportée à l'activité spécifique du PO₄ acido-soluble.

nous-mêmes^{2,3}. L'idée d'une substance qui stimule les biosynthèses ou rompt l'équilibre métabolique normal au niveau d'organes sensibles, paraît devoir être envisagée en premier lieu. Des essais d'isolement d'une telle substance sont restés jusqu'à présent sans succès, ce qui n'exclut pas son existence.

M. WINTZERITH, N. KLEIN, L. MANDEL
et P. MANDEL

Institut de Chimie biologique, Faculté de Médecine,
Strasbourg, le 13 décembre 1958.

Summary

Animals having an ascites hepatoma show an increase in the incorporation of P³² into ribonucleic acid and desoxyribonucleic acid of the pancreas, whereas no change is seen in the kidneys. The variations noted in the pancreas may be compared with those observed previously in the liver and the adrenals. It can therefore be presumed that a substance which stimulates biosynthesis or disrupts the normal metabolic balance is produced by the ascites cells.