

Fig. 2. Samples were fixed with 4% formaline and stained according to Gram. (A) Prior to the addition of lysozyme. (B) After an incubation of 15 min in saccharose. (C) After 60 min of incubation in phosphate.

and the amount of protoplasts after 1 h did not exceed 20–30% (Figure 2). Cells treated with lysozyme, however, very soon become sensitive to osmotic shock and this sensitivity was increased by freezing. In the course of the osmotic shock, the cytoplasm is solubilized into the medium (Figure 1b). The release of proteins into the fraction which does not undergo sedimentation at 10 000 g was determined colorimetrically⁶. The fragile cells from the phosphate medium retain to a limited extent the capacity of forming colonies on 2% peptone with 10% of saccharose. The capacity to form cell walls was studied on fragile cells formed after a 30 min action of lysozyme and on ghosts separated by centrifugation after the breaking up of these cells by an osmotic shock. The fragile cells, ghosts derived from them, and protoplasts, were incubated for 1 h in a C/G medium containing 0.25 μ C 14 C-DAP/ml, and the material insoluble in hot TCA was degraded with

trypsin⁷. The radioactivity in the trypsin-resistant fraction was measured by means of a methane 2 π Frie-secke-Hoepfner counter. According to the Table, it is evident that the incorporation into the material corresponding to the cell wall occurred only in fragile cells and in ghosts derived from these cells.

Zusammenfassung. Kurzfristige Einwirkung von Lysozym in Phosphatpufferlösung auf *Bacillus megatherium* ergibt Zellen mit bis zur Hälfte reduzierter Zellwand. Solche «fragile Zellen» sind gegen osmotische Schocks empfindlich und lassen sich in Formen überführen, die außer der cytoplasmatischen Membran nur Zellwandreste besitzen. «Fragile Zellen» (auch von ihnen hergeleitete sedimentäre Formen) behalten die Fähigkeit der Zellwandsynthese. Sie sind fähig, in Medien, die 10% Saccharose enthalten, in eingeschränktem Masse sich zu normalen Zellen zu regenerieren.

J. CHALOUPKA and K. VEREŠ

Department of Microbiology and Isotope Laboratory, Biological Institute of the Czechoslovak Academy of Science, Prague (Czechoslovakia), June 1, 1961.

⁶ H. O. LOWRY, N. J. ROSENBRUGH, A. L. FARR, and R. J. RANDALL, J. biol. Chem. 193 265 (1951).

⁷ J. T. PARK and R. HANCOCK, J. gen. Microbiol. 22, 249 (1960).

The incorporation of 14 C-DAP into the cell walls

	cpm/mg	Protoplasts	Fragile cells	Ghosts
Without chloramphenicol	51	877	1236	
+ chloramphenicol 100 μ g/ml	36	850	—	

A propos du mode d'action de l'iproniazide, inhibiteur de la mono-amino-oxydase

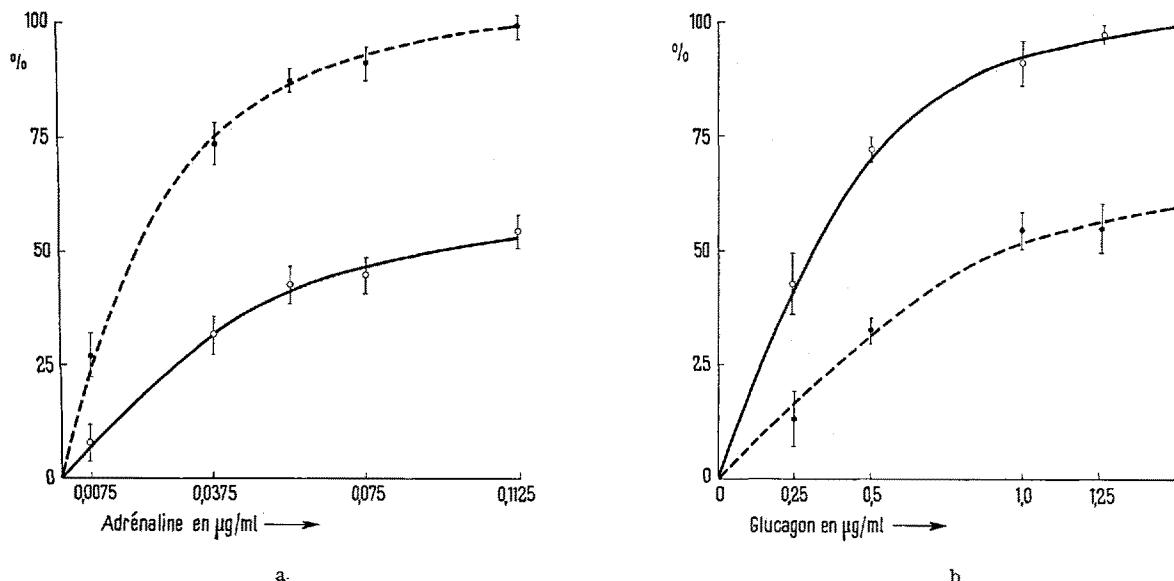
Afin de mieux connaître les relations existant entre l'adrénaline et les inhibiteurs de l'mono-amino-oxydase, nous avons étudié la glycogénolyse des coupes de foie, dont SUTHERLAND¹ a montré qu'elle est stimulée quantitativement par l'adrénaline. Nous avons ainsi observé² une augmentation de la sensibilité à l'adrénaline des coupes d'animaux traités à l'iproniazide. Cet effet est indirect et

ne dépend pas d'une inhibition par cette substance de la désamination oxydative de l'adrénaline.

Ces résultats nous ont amené à étudier dans les mêmes conditions l'action du facteur hyperglycémiant du pancréas sur le système des phosphorylases. On sait en effet que le glucagon stimule la glycogénolyse au même titre que l'adrénaline mais que son mode d'action est probablement différent.

¹ E. W. SUTHERLAND, Ann. New York Acad. Sci. 54, 693 (1952).

² F. MEYER, C. R. Acad. Sci. 252, 2616 (1961).



Stimulation de la glycogénolyse par des coupes de foie en présence de différentes quantités d'adrénaline (Figure a) et de glucagon (Figure b). —○— Animaux normaux, - - - - Animaux ayant reçu par os 80 mg/kg d'iproniazide, 90 min avant l'expérience. Ordonnées: Libération de glucose en % de la stimulation maximale (obtenue par 3 µg de glucagon en 45 min à 37°; elle est de 5,6 ± 1,05 mg par g de coupes de foie). Abscisses: Quantités d'hormones en µg/ml. Incubation: Tampon phosphate 0,02 M, NaCl 90/00. Fréquence d'agitation 112/min pendant 45 min à 37°. La vitesse de la glycogénolyse spontanée des coupes était, à 15% près, la même chez les deux sortes d'animaux.

Les coupes d'animaux traités à l'iproniazide n'ont pas de glycogénolyse spontanée supérieure à celle d'animaux normaux.

Techniques. Le prélèvement du foie provenant de cobayes mâles (500 à 600 g) a été effectué sous anesthésie profonde (10 mg d'amytal/kg). Les coupes ont été préparées à partir d'une même région d'un même lobe de foie avec un Stadie-Slicer. Pour chaque détermination, 2 coupes de 95 à 110 mg ont été incubées dans un tampon phosphate pH 7 ou 7,2, 0,02 M et contenant NaCl 90/00.

Le glucose expulsé par les coupes a été dosé d'après NELSON³. Nous avons vérifié au cours de plusieurs expériences que la libération du glucose traduit la glycogénolyse, en effectuant des dosages parallèles de glucose et de glycogène. Les solutions aqueuses d'iproniazide (Roche), d'adrénaline (Clin-Byla) et de Glucagon (Lilly) ont été préparées immédiatement avant l'expérience.

Résultats. Comme le montre la Figure a, des coupes provenant d'animaux traités à l'iproniazide sont plus sensibles à l'adrénaline que celles des animaux non traités.

Par contre (Figure b), c'est l'inverse qui se produit avec le glucagon: la stimulation de la glycogénolyse par cette substance est beaucoup plus faible chez les animaux traités que chez les animaux témoins.

Discussion. Le traitement par l'iproniazide modifie la réactivité du système glycogénolytique vis-à-vis de l'adrénaline et du glucagon d'une façon diamétralement opposée.

Ces deux hormones ont pour effet d'augmenter la quantité d'AMP 3'5' cyclique nécessaire à l'activation de la phosphorylase⁴ par des mécanismes différents.

En ce qui concerne l'adrénaline, le mécanisme proposé postule la formation d'un chélate du type ATP-enzyme Mg⁺⁺NH₂ qui mène à la formation d'adénylate cyclique lorsque c'est l'adrénaline qui fournit ce groupe⁵.

Dans ce cas, on comprendrait que l'inhibition de la désamination oxydative par l'iproniazide conduise à l'accumulation de groupes NH₂ favorisant ainsi la formation du chélate. Les conditions requises pour l'action optimum

de l'adrénaline se trouveraient ainsi réalisées, le catecholamine pouvant déplacer les autres groupes aminés.

En ce qui concerne le glucagon, on peut supposer qu'il ait à réagir avec l'un des éléments du chélate. En présence d'un excès de groupes NH₂ cet élément se trouvant déjà engagé dans la formation du chélate, ne pourrait plus participer à ces réactions. Cette conception permet de rendre compte du fait que l'action du glucagon soit plus faible chez les animaux traités à l'iproniazide que chez les animaux non traités.

D'autre part, GEY et PLETSCHER⁶ ont observé une augmentation d'acide lactique et d'acide pyruvique chez des animaux après injection de certains amines. L'iproniazide exalte cet effet, dont on peut d'ailleurs supposer qu'il reflète une stimulation de la phosphorylase. Les résultats obtenus par GEY et PLETSCHER sur le plan physiologique vont dans le sens de l'hypothèse formulée.

Zusammenfassung. Der Einfluss von Iproniazid auf das phosphorylase-aktivierende System kennzeichnet sich durch eine Erhöhung der Adrenalin- und eine Verminderung der Glucagon-Wirkung. Es ist möglich, dass die Katalyse der Ringbildung aus ATP in Gegenwart bestimmter Aminogruppen durch Iproniazid begünstigt wird.

F. MEYER

Laboratoire de Biochimie, Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris (France), le 17 août 1961.

³ N. NELSON, J. biol. Chem. 153, 375 (1944).

⁴ B. BELLEAU, *Adrenergic Mechanism* (Churchill, London 1960), p. 223.

⁵ B. BELLEAU, *Adrenergic Mechanism* (Churchill, London 1961), p. 223.

⁶ K. F. GEY et A. PLETSCHER, Exper. 17, 25 (1961).