

Total liver fat* (mg/100 g body-weight) in mice previously fed a high-fat and control diet respectively (mean \pm S.E.; figures in parentheses indicate the number of animals)

| Diet ^b | Fed | Fed STH (3 h) ^c | Fed STH (6 h) ^c | Fasted 24 h | Fasted 24 h STH (30 min) ^c | Fed | Fasted 36 h | Fasted 36 h STH (6 h) ^c |
|--|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--|------------------------|------------------------|---------------------------------------|
| Control | 340 \pm 29.8 (8) | 388 \pm 20.7 (9) | 433 \pm 22.4 (8) | 526 \pm 56.8 (7) | 717 \pm 74.0 (8) | 268 \pm 16.6 (10) | 887 \pm 54.3 (10) | 1229 \pm 155.3 (10) |
| High-fat | 282 \pm 13.0 (11) | 210 \pm 22.5 (10) | 290 \pm 25.9 (10) | 297 \pm 17.2 (7) | 309 \pm 20.4 (7) | 360 \pm 20.9 (8) | 452 \pm 77.0 (9) | 604 \pm 106.0 (9) |
| <i>P</i> | >0.05 | <0.05 | <0.001 | <0.01 | <0.001 | <0.01 | <0.001 | <0.01 |
| Duration of experimental feeding | | 12 days | | 12 days | | 22 days | | |

* Estimated gravimetrically after extraction with chloroform-methanol (2:1). ^b Composition³ (in cal.%): Control diet: 20 protein, 60 carbohydrate (starch), 20 fat. High-fat diet: 20 protein, 8 carbohydrate, 72 fat (beef tallow). ^c Interval between subsequent STH injection (Somatotropin SPOFA, 0.6 mg/animal) and killing of mice.

with an injection of STH, the resulting fatty infiltration of the liver is considerably less marked in mice fed a high-fat diet than in animals receiving a control diet.

Previous feeding with a high-fat diet thus prevents the development of liver steatosis or substantially reduces the fatty infiltration of the liver caused by acute starvation or STH. It is not probable that this is a consequence of a decrease in the mobilization of depot fat. In an *in vitro* experiment we did not reveal any significant difference in the rate of free fatty acid release from mesenteric fat pads of mice fasting 24 h, regardless of whether they were previously fed a control or a high-fat diet (208 ± 26 and 225 ± 37 μ E/100 mg tissue nitrogen/90 min respectively). The absence or a lower degree of liver steatosis induced by fat mobilizing stimuli in animals fed a high-fat diet may thus be considered a consequence of a nutritionally induced metabolic adaptation manifesting itself

by an increased ability of the organism to utilize fat, in our case the endogenous fat mobilized from depots.

Zusammenfassung. Bei 12–22 Tage mit einer ausreichend ergänzten Fettdiät gefütterten Mäusen, tritt die durch akuten Hunger oder einmalige Verabfolgung von STH ausgelöste Lebersteatose, wenn überhaupt, nur in abgeschwächter Form auf. Dieser Effekt kann als Folgeerscheinung einer Stoffwechseladaptation an die hohe Fettzufuhr gedeutet werden, die durch eine gesteigerte Verwertungskapazität von exogenem und endogenem Fett in Erscheinung tritt.

T. BRAUN, P. FÁBRY, and R. PETRÁSEK

Physiological Department of the Institute of Human Nutrition, Prague (Czechoslovakia), September 10, 1962.

PRO EXPERIMENTIS

Nouvelle méthode de préparation de la préalbumine sérique et principales caractéristiques physico-chimiques

Mise en évidence par SCHULTZE, SCHÖNENBERGER et SCHWICK¹, la préalbumine du sérum a parfois été considérée comme un artéfact dû à certaines conditions d'électrophorèse. Par une nouvelle méthode de préparation, nous avons pu obtenir cette protéine à l'état pur, montrant ainsi qu'il s'agissait d'une entité dont les principales caractéristiques physico-chimiques ont été déterminées.

Le premier temps de la préparation est l'application de la méthode de fractionnement du sérum par le phénol²: 200 g de ClNa sont dissous dans un litre de sérum; un volume d'une solution à 5% de phénol est alors ajouté, goutte à goutte avec agitation; un important précipité se produit, que l'on élimine par centrifugation. Le surnageant est dialysé contre eau courante, puis lyophilisé: il contient essentiellement une α_1 -globuline (l'orosomucoïde) et, en proportion plus faible, la préalbumine. Dans le deuxième temps, le lyophilisat est repris par du sérum physiologique, un insoluble est éliminé par centrifugation, et le surnageant est ajusté à pH 4,3 et amené à 66% de saturation en sulfate d'ammonium. Le précipité obtenu est

dialysé et lyophilisé: il est constitué par la préalbumine et des traces d'orosomucoïde. Une électrophorèse de zone sur colonne d'amidon, à pH 8,6 selon la technique de BOURRILLON et GOT³ permet de séparer l' α_1 -globuline et d'obtenir la préalbumine pure.

L'immunoélectrophorèse et l'électrophorèse en gel d'amidon (Figure 1b) montrent que cette préalbumine est homogène. De plus, l'électrophorèse en gel d'amidon d'un sérum enrichi en préalbumine (Figure 1b) met en évidence l'augmentation de la bande correspondant à la protéine riche en tryptophane, à laquelle cette préalbumine est identifiée.

L'étude électrophorétique en veine liquide, de pH 8,6 (Figure 1c) à pH 4,6, confirme l'homogénéité de cette protéine et permet de tracer la courbe de mobilité en fonction du pH (Figure 2): son point isoélectrique est à pH 4,7 et sa mobilité à pH 8,6: $-7,6 \times 10^{-5}$ cm² V⁻¹ sec⁻¹.

La courbe de précipitation par le sulfate d'ammonium montre qu'elle précipite entre les concentrations 2,4 M et 2,8 M à pH 7. La vitesse de sédimentation à dilution in-

¹ H. E. SCHULTZE, M. SCHÖNENBERGER et G. SCHWICK, *Biochem. Z.* 323, 267 (1956).

² J. MICHON, *Nature* 193, 1077 (1962).

³ R. BOURRILLON et R. GOT, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 41, 643 (1959).

finie s_{20}^{20} est de 4,15 S. Ces deux techniques confirment la pureté de cette préalbumine. L'ensemble de ces résultats permet d'affirmer la réalité de la préalbumine.

Ses caractères de solubilité sont les suivants: elle est précipitée par l'acide trichloracétique à 5%, par l'éthanol

à 30%, par l'ébullition. Son coefficient d'absorption à 278 m μ $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 12,5$.

Ses principales propriétés chimiques ont été déterminées: 14,2% d'azote par la microméthode de Kjeldahl, 96% de peptide par le biuret, 0,9% d'osamines après une hydrolyse de 4 h à 100°C par HCl 3N, 2,3% d'hexoses et 2,3% d'acide sialique; elle ne contient pas de phosphore.

SCHULTZE et al.¹ ont déterminé quelques caractéristiques physico-chimiques de la préalbumine qu'ils avaient étudiée en 1956. Ils donnent une mobilité électrophorétique de 50% supérieure à celle de l'albumine pour la préalbumine purifiée et ils admettent que la valeur de la mobilité augmente avec la purification, les préparations peu purifiées ayant une mobilité de 20% supérieure à celle de l'albumine.

Pour toutes nos préparations, nous avons trouvé sensiblement la même valeur de mobilité électrophorétique: 20% de plus que l'albumine. L'électrophorèse sur papier (Figure 1a) ou en veine liquide (Figure 1d) d'un sérum enrichi en préalbumine (20 mg/ml) confirme cette donnée: la frontière préalbumine, très apparente, a la même mobilité que celle obtenue lors de l'électrophorèse de la protéine pure. Notons que la position de la bande préalbumine dans l'électrophorèse en gel d'amidon est en accord avec cette valeur de mobilité légèrement plus élevée que celle de l'albumine, les deux protéines ayant des poids moléculaires voisins.

Le pHi, qui n'avait pas encore été déterminé, est proche de celui de l'albumine. La constante de sédimentation est en accord avec celle de SCHULTZE et al.¹. Cependant, la courbe de variation de la vitesse de sédimentation en fonction de la concentration est une droite de pente négative ($s = 4,15\text{S} - 0,08c$) alors que SCHULTZE et al.¹ obtenaient une droite de pente nulle.

Quant aux propriétés chimiques, SCHULTZE et al.¹ trouvaient 1,1% d'hexoses, 0,15% d'hexosamines et absence d'acide sialique. Nous trouvons des pourcentages nettement plus élevés pour ces différentes substances glucidiques; ces valeurs sont confirmées par le taux d'azote relativement faible, le pourcentage de peptides, et par le fait que la préalbumine est légèrement colorée par le réactif de Schiff après oxydation périodique en électrophorèse sur papier.

Ainsi, la préalbumine obtenue par cette nouvelle méthode de préparation se présente comme une entité protéique; il s'agit, vraisemblablement de la protéine mise en évidence par SCHULTZE et al.¹, bien que certaines des caractéristiques physico-chimiques de ces deux protéines diffèrent d'une façon significative.

Summary. Prealbumin is prepared by a new method. Its homogeneity is demonstrated and its electrophoretic behaviour is discussed. Some new physico-chemical characteristics are determined.

R. GOT et R. BOURRILLON

Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine, Paris (France), le 26 octobre 1962.

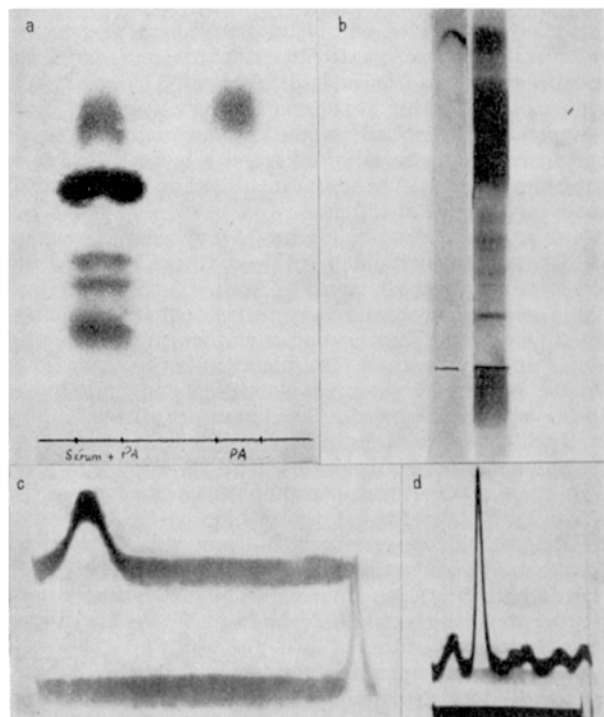


Fig. 1. Electrophorèses de la préalbumine. (a) Electrophorèse sur papier à pH 8,6: préalbumine pure (droite) - Sérum enrichi en préalbumine (gauche). (b) Electrophorèse sur gel d'amidon à pH 8,9: préalbumine pure (droite) - Sérum enrichi en préalbumine (gauche). (c) Electrophorèse libre à pH 8,6 du sérum enrichi en préalbumine. (d) Electrophorèse en veine liquide du sérum enrichi en préalbumine.

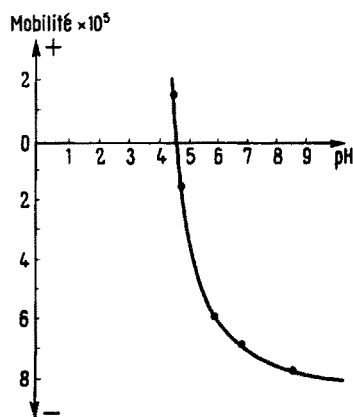


Fig. 2. Courbe de mobilité électrophorétique de la préalbumine en fonction du pH. Force ionique 0,1.

Thin-Layer Chromatography of Deoxyribo-Oligonucleotides

Chromatography has been used extensively as a tool for characterization of nucleotides. Despite much effort and many previous improvements in this field^{1,2}, the criteria of chromatography (efficient and rapid separations, high

sensitivity, mildness and reproducibility) have not been completely met by the techniques so far developed.

¹ E. A. PETERSON and H. A. SOBER, J. Amer. chem. Soc. 78, 751 (1956).

² R. V. TOMLINSON and G. M. TENER, J. Amer. chem. Soc. 84, 2644 (1962).