

the photo-oxidation process of amino acid residues by decreasing the collision frequency between active oxygen or hydrogen peroxide and enzyme, increasing the viscosity of medium. Furthermore, these oxidizers may be destroyed by the reaction with substrate or product around the enzyme, creating a favourable condition for enzyme protection.

**Zusammenfassung.** Durch sichtbares Licht wird die Taka-Amylase A in Gegenwart von Riboflavin inaktiviert. Die Inaktivierung der Amylase ist durch photochemische und thermische Einwirkung verursacht. Das Substrat verhindert in gewissem Masse die Inaktivierung der Amylase. Der mögliche Mechanismus für eine solche Schutzwirkung des Substrats wird diskutiert.

G. TOMITA and S. S. KIM

*Institute of Biophysics, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University, Fukuoka (Japan),  
December 7, 1964.*

### Distinction entre les variations phénotypiques sexuelles et génétiques chez le Rat, par l'analyse immunoélectrophorétique des protéines urinaires spécifiques<sup>1</sup>

**Introduction.** Nous avions antérieurement noté que les protéines urinaires possèdent une personnalité antigénique complexe, étant le siège de variations individuelles et sexuelles<sup>2</sup>.

Nous avons poursuivi ces études de caractérisation des variations phénotypiques des protéines urinaires, dans le double but de voir s'il y a corrélation entre l'importance de ces différences phénotypiques et la pureté génétique et afin de distinguer entre elles les variations reliées au sexe et à la pureté génétique.

**Matériel et méthodes.** Nous avons soumis à l'ultrafiltration<sup>3</sup>, 3 pools d'urine de 10 rats de race Sprague-Dawley adultes chacun, de même sexe et de sexe différent, afin d'obtenir des concentrations protéiques ajustées de 65 mg/ml d'urine. Nous avons fait l'analyse électrophorétique comparée, sur membrane d'acétate de cellulose<sup>4</sup>, à l'aide de l'appareil microzone R-101 de Beckman, de ces urines concentrées solubilisées en buffer phosphate, pH

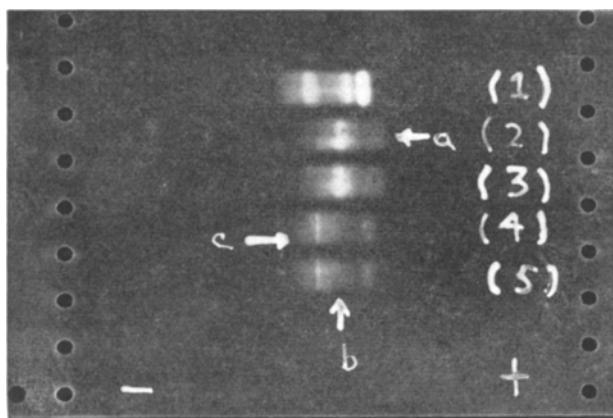


Fig. 1. Electrophoresis sur membrane d'acétate de cellulose des protéines urinaires concentrées par ultrafiltration (65 mg de protéines/ml de solution en buffer phosphate pH 7.0) de rats mâles (2 et 3) et de rats femelles (4 et 5); 1 représentant la migration de référence du sérum de rat normal. A noter les différences marquantes entre les protéines urinaires mâle et femelle (flèches). Ces différences sont surtout importantes au niveau des rho-protéines (flèche a) et de l'uroprotéine principale (flèche b).

7.0. D'autre part, ces urines poolées ont été utilisées après lyophilisation, pour la production d'immunsérum, chez le lapin, selon la méthode de l'adjuvant complet de Freund; ces anticorps étant subséquemment utilisés dans

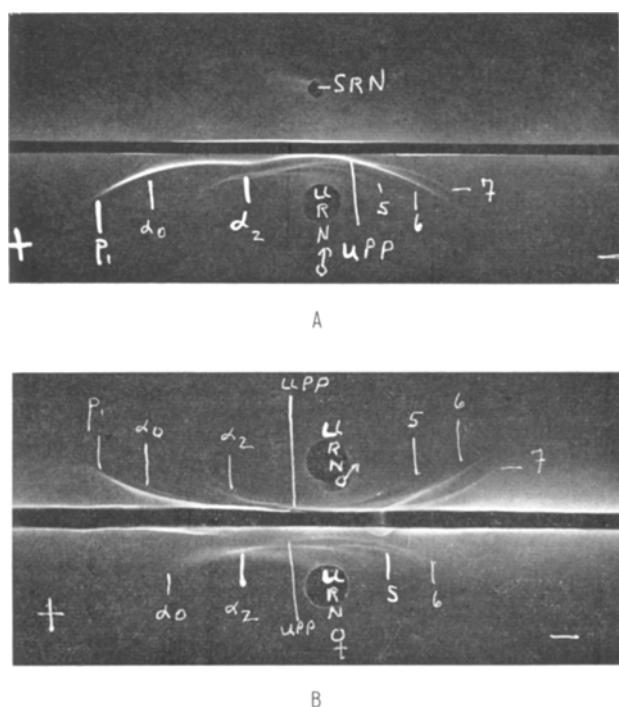


Fig. 2. Illustration des sites protéiques où se situent les variations phénotypiques reliées au sexe sur les protéines urinaires du rat. A: A.I.E.; montrant la richesse de l'anticorps de Lapin en protéines urinaires spécifiques (cet immunsérum permettant de dévoiler avec l'urine de rat mâle concentrée 7 constituants d'origine non-sérique). B: Analyse immunoélectrophorétique comparée de l'urine du rat mâle (haut) et femelle (bas) à l'aide de l'immunsérum antiurine de mâle (cuve longitudinale) démontrant l'absence d'une rho-protéine dans l'urine femelle et la différence quantitative relative de l'UPP.

<sup>1</sup> Travail subventionné par l'octroi n° 362-10 du Conseil des Recherches médicales du Canada.

<sup>2</sup> D. DUFOUR and A. TREMBLAY, Rev. Fr. Et. Clin. Biol. 10, 90 (1965).

<sup>3</sup> H. GRANT, J. clin. Path. 10, 360 (1957).

<sup>4</sup> F. G. WILLIAMS JR, in *Serum Proteins and Dysproteinemias* (Ed., SUNDERMAN; Lippincott Co., Philadelphia 1964), p. 125.

les études immunologiques faites à l'aide de l'immunoélectrophorèse<sup>5</sup>, dans le but d'étudier le comportement antigénique des urines d'individus différents, de même sexe et de sexe différent vis-à-vis l'immunsérum antiurine de pool n° 1, de rats mâles, dévoilant 7 constituants antigéniques d'origine non-sérique (Figure 2A).

**Résultats.** La Figure 1 montre des différences importantes entre les deux sexes. Il est à remarquer, comme nous l'avons antérieurement rapporté<sup>6</sup>, qu'il existe une variation phénotypique sur l'uroprotéine principale (flèche b) et sur une rho-protéine (flèche a).

L'analyse immunoélectrophorétique de la Figure 2B confirme l'existence de ces différences entre les protéines urinaires mâle et femelle et illustre les sites rho-protéique

et uroprotéique principal de ces variations sexuelles. Nous montrons de plus que les uroprotéines n° 5 et 6 de l'urine femelle sont plus concentrées que les protéines urinaires homologues de l'urine mâle.

D'autre part, dans ces analyses comparées, les urines différentes de même sexe se comportent différemment à l'A.I.E. et à l'électrophorèse sur acétate de cellulose; à l'électrophorèse sur acétate de cellulose (Figure 3A), nous constatons une différence entre ces individus de même sexe au niveau des  $\alpha_1$ -uroprotéines (flèche d). L'immunoélectrophorégramme (Figure 3B) confirme non seulement l'existence d'une telle différence chez les individus de même sexe, mais confirme de plus le site  $\alpha$ -protéique de cette différence (flèche d).

**Discussion.** L'analyse des protéines urinaires permet de faire, à l'échelle protéique, l'étiquetage génétique et sexuel<sup>7</sup>; constituant une nouvelle tribune d'analyse du degré de purification d'un matériel biologique; il semble bien en effet que la diminution, par des croisements rapprochés, des différences génétiques entre les individus de même race, pourrait laisser une signature au niveau des variations phénotypiques sur les uroprotéines, variations dont l'importance pourrait diminuer en fonction de l'augmentation du degré de pureté génétique. D'autre part, il serait utile d'étudier soit l'influence pharmacologique des hormones sexuelles soit l'influence physiologique des phases de la maturation sexuelle sur les variations phénotypiques reliable au sexe.

**Summary.** We show that phenotypical variations of rat urinary proteins are either sex-linked (variations at the rho-uroprotein and major urinary protein level) or related to the genetic purity (variations at the  $\alpha$ -uroprotein level).

D. DUFOUR  
avec la collaboration technique de  
G. GAUTHIER et S. LEMIEUX

Centre de Biomédecine, Université Laval, Québec  
(Canada), le 10 aout 1965.

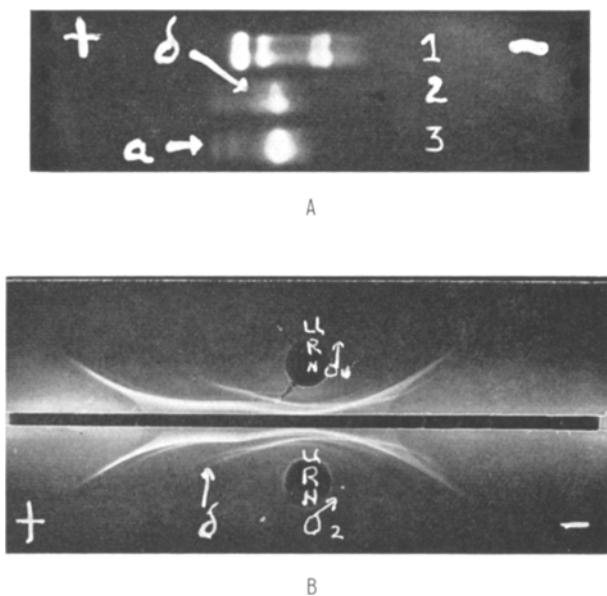


Fig. 3. Mise en évidence, par électrophorèse sur membranes d'acétate de cellulose des protéines urinaires concentrées (65 mg de protéines/ml) (A) et par A.I.E. (B), du site uroprotéique de la variation phénotypique reliable à la pureté génétique, chez le rat de race Sprague Dawley (voir Figure 3A, et Figure 3 B, flèche d). A: 1, migration de référence du sérum normal du rat; 2, urine concentrée du pool<sub>1</sub> constitué par l'urine de 10 rats mâles; 3, urine concentrée du pool<sub>2</sub> constitué par l'urine de 10 autres rats mâles, de même race.

<sup>5</sup> P. GRABAR et C. A. WILLIAMS, Biochem. biophys. Acta 10, 193 (1953).

<sup>6</sup> D. DUFOUR et A. TREMBLAY, Rev. immunol. Paris, acceptée et sous presse (1965).

<sup>7</sup> J. S. FINLAYSON, M. POTTER et C. A. RUNNER, J. nat. Cancer Inst. 10, 193 (1963).

### Synthetic Peptides Related to Eleodoisin<sup>1</sup>. Physalaemin-Like Peptides

Recently<sup>2</sup> a new endecapeptide, *physalaemin*, was isolated from methanol extracts of the skin of *Physalaemus fuscumaculatus*, a South-American amphibian.

Bio-assay and chemical analysis showed that physalaemin was closely related to eleodoisin, both from a biological and a chemical point of view. The proposed structure was confirmed by synthesis<sup>3,4</sup>.

This communication describes briefly some chemical characteristics and some biological actions of 22 synthetic peptides related to physalaemin or to its active frag-

ments. Owing to the close resemblance between physalaemin and eleodoisin, it is evident that the study of the present group of polypeptides will be relevant also to the understanding of the relationship between chemical structure and biological activity in eleodoisin-like peptides.

<sup>1</sup> Part V, for part IV see<sup>7</sup>.

<sup>2</sup> V. ERSPAMER, A. ANASTASI, C. BERTACCINI, and J. M. CEI, Exper. 20, 489 (1964).

<sup>3</sup> L. BERNARDI, G. BOSISIO, O. GOFFREDO, and R. DE CASTIGLIONE, Exper. 20, 490 (1964).

<sup>4</sup> F. CHILLEMI, Gazz. chim. Ital. 95, 402 (1965).