Composition en Acides Aminés de Cytochrome c Cristallisé à partir de Papillon de Ver à Soie (*Bombyx mori* L.)

par Kinji UEDA

Laboratoire Séricicole, Faculté d'Agriculture,
Université de Nagoya, Anjo, Aichi

Un précédent travail a montré l'existence du cytochrome c dans les muscles des ailes de papillon de Ver à soie (*Bombyx mori* L.) et a décrit son isolement sous une forme cristalline (UEDA, 1959). Le cytochrome c est soluble et facilement détachables des parties insolubles de la cellule et ces caractères permettent de l'obtenir à l'état cristallisé à partir de la levure et du myocarde des Vertébrés (BODO, 1955 ; HAGIHARA *et ses coll.*, 1956 a, b, c, 1957). Les recherches des dix dernières années ont accumulé une somme considérable de notions nouvelles à son sujet. Les cytochromes c obtenus à l'état cristallisé à partir de la levure et du myocarde des Vertébrés ont été bien étudié sur ces compositions en acides aminés (NUNNIKHOVEN, 1958 ; PALÉUS, EHRENBURG et TUPPY, 1955 ; TUPPY, 1957 ; TUPPY et PALÉUS, 1955). Au point de vue de la biochimie comparée il est intéressant de constater les différences entre les cytochromes c obtenus de sources variées. Dans le présent travail nous indiquons la composition total en acides aminés de cytochrome c cristallisé du papillon de Ver à soie.

Nous avons étudié la composition en acides aminés de cytochrome c cristallisé qui est préparé dans des conditions semblables à celles décrits dans le précédent travail (UEDA, 1959). Les extinctions relatives de cette solution ont été consignées dans le tableau 1. Le valeur de E red 550/E oxy 280 est 1.90. Dans chaque analyse, environ 10 mg de cytochrome c sont hydrolysés par d'acide chlorhydrique 6 N, 12 heures à 110°C en tube

Tableau 1. Extinction relative du cytochrome c utilisé

	Forme réduite			Forme oxydée			
m μ	550	520	410	530	400	355	280
E.r	1.00	0.55	5.10	0.43	3.60	1.20	0.83

scellé.

D'abord nous avons essayé la chromatographie sur papier bidimensionnelle sur les hydrolysats de cytochrome c, en utilisant plusieurs solvants : butanol+acide acétique, phenol+eau et collidine +lutidine etc. Sur ces chromatogrammes on reconnaît les acides aminés suivants : la glycine, l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine, la thréonine, la tyrosine, la phénylalanine, la histidine, la lysine, l'arginine, l'acide aspartique et l'acide glutamique.

La composition quantitative en acides aminés a été établie par la méthode de MOORE et STEIN (1954) et l'opération est faite sur une colonne de

Tableau 2. Acides aminés dosés par la méthode de MOORE et STEIN (1954)

Acides aminés	A	B
Acide aspartique	9.4	8.1
Thréonine	5.0	4.2
Sérine	3.2	2.5
Acide glutamique	10.3	9.0
Proline	(3.0)	(2.5)
Glycine	7.0	5.3
Alanine	7.5	6.0
Cystine	(1.5)	(1.4)
Isoleucine	5.1	4.4
Leucine	8.0	6.9
Tyrosine	4.6	4.1
Phénylalanine	6.6	5.9
Histidine	3.2	2.8
Lysine	11.4	10.8
Arginine	2.7	2.4
Valine	5.5	4.7
Méthionine	1.8	1.6
Ammoniaque	2.5	
Total	95.9	

A : Acide aminé pour 100 g protéine

B : Acide aminé résidu pour 100 g protéine

() : Valeur aberrante

¹ カイコガの結晶チトクローム c のアミノ酸組成. 上田金時 (名古屋大学農学部養蚕学教室)

Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology Vol 8, No. 2, 1964.

(Reçu le 14 décembre, 1963)

Dowex-50. Les données quantitatives sur la composition en acides aminés sont citées dans le tableau 2.

Si l'on compare la formule brute du cytochrome c de Ver à soie avec celles de boeuf et de levure, on constate que les trois protéines sont constituées qualitativement par les presque mêmes acides aminés et quantitativement il apparaît quelques différences marquantes concernant particulièrement, la glycine et la thréonine.

Nous avons montré que les activités biologiques de ces cytochromes c sont les mêmes (UEDA, 1960). TUPPY (1957) a montré que dans le cytochrome c de Ver à soie les acides aminés N-terminaux sont différents avec les autres.

Comme tous ces cytochromes c ont des propriétés générales communes l'étude comparée de leur structure doit donner des résultats intéressants au point de vue biologique. L'étude de cytochrome c de divers insectes permettra d'aborder cette question.

Je remercie bien vivement M. le Dr. K. HASEGAWA, Professeur à l'Université de Nagoya, qui m'a donné des conseils pour ce travail, aussi que M. le Dr. S. TAMURA, chargé de Recherche à l'Institut National sur l'Alimentation, Ministère

de l'Agriculture et des Forêts, qui m'a aidé à faire ces recherches par ses riches expériences.

BIBLIOGRAPHIE

- BODO, G. (1955) *Nature* **176** : 829~830.
 HAGIHARA, B. *et ses coll.* (1956a) *Nature* **178** : 629~630.
 HAGIHARA, B. *et ses coll.* (1956b) *Nature* **178** : 630~631.
 HAGIHARA, B. *et ses coll.* (1956c) *Nature* **178** : 631~632.
 HAGIHARA, B. *et ses coll.* (1957) *Nature* **179** : 249~250.
 MOORE S. et W. H. STEIN (1954) *J. Biol. Chem.* **211** : 893~906.
 NUNNIKHOVEN, R. (1958) *Biochem. Biophys. Acta* **28** : 108~119.
 PALÉUS, S., A. EHRENBURG et H. TUPPY (1955) *Acta. Chem. Scand.* **9** : 365~374.
 TUPPY, H. (1957) *Z. Naturforschg.* **12b** : 784~788.
 TUPPY, H. et S. PALÉUS (1955) *Acta. Chem. Scand.* **9** : 353~364.
 UEDA, K. (1959) *C. R. Soc. Biol.* **153** : 1666~1669.
 UEDA, K. (1960) *J. Sericult. Sci. Japan* **29** : 488~494.

抄 録

DDT 中毒虫に現われる神経刺激物質

HAWKINS, W. B. and J. STERNBURG (1964) Some chemical characteristics of a DDT-induced neuroactive substance from cockroaches and crayfish. *J. Econ. Ent.* **57** : 241~247.

DDTに中毒したワモンゴキブリの体液にはDDTではない神経刺激物質が含まれ、体液におけるその物質の蓄積量とDDT中毒症状との間に平行関係がみられる。この物質はゴキブリに電氣的の刺激を与えても生じるし、生理食塩水に神経をつけて刺激を与えても生じる。DDTに中毒したワモンゴキブリ及びザリガニの体液のエタノール可溶部を透析後、ペーパークロマトグラフィーを行なって活性部位を溶出し、さらに2回ペーパークロマ

トグラフィーを行なって部分的に精製をした。活性部位は、神経索を入れた生理食塩水に溶出液を加え活動電位の高揚によって判定した。その結果、両動物よりとりだされた神経刺激物質は同じであることがわかった。さらにゴキブリの神経索を、TEPP又はTMPPを含む生理食塩水につけて生じた神経刺激物質も、DDT中毒虫の体液のそれと同じであることがたしかめられた。そこで大量のザリガニをDDTで処理し、1 lの体液をとりだしペーパークロマトグラフィーによって連続的に精製した刺激物質を各種の試薬によるスポット試験を行ない同定をこころみた。その結果、芳香族アミンかそのエステルであろうことが結論された。

(農技研 藤条 純夫)