

Mesures à l'aide de trois paramètres de la variation génétique dans les 3 classes de protéines

	Proportions moyennes des locus polymorphes	Nombres moyens d'allèles par locus	Proportions moyennes de locus hétérozygotes par individu
Groupe I: enzymes «critiques»	0,50	1,37	0,128
Groupe II: enzymes «périphériques»	1,00	2,00	0,316
Groupe III: protéines non-enzymatiques	0,69	1,76	0,457

système de tampon discontinu. La révélation des protéines a été effectuée par le noir amide et celle des enzymes par les méthodes chromogéniques. La description des systèmes et leur nomenclature sont rapportées ailleurs⁸.

Résultats. Les protéines étudiées (protéines du blanc de l'œuf, protéines du sérum, enzymes sériques et érythrocytaires) ont été réparties en trois grands groupes correspondant respectivement aux protéines non-enzymatiques (ovalbumine, ovoglobulines G3 et G2, conalbumine, protéines X et Y, préalbumine 2, albumine, prétransferrine, transferrine, globuline α lente, hémoglobine), aux enzymes «critiques» (lactate déshydrogénase, malate déshydrogénase, phosphoglucumutase, phosphohexoisomérase, glucose-6-phosphate déshydrogénase, 6-phosphogluconate déshydrogénase, fructose 1-6 diphosphate-déshydrogénase) et aux enzymes «périphériques» (estérases I, II, III, IV et V, phosphatase alcaline et déshydrogénase alcoolique). Le tableau présente une comparaison de la variabilité génétique dans ces trois classes de protéines.

Les paramètres servant à mesurer la variabilité génétique sont les proportions moyennes de locus polymorphes (nombre de protéines polymorphes par le nombre total de protéines dans chaque classe), les nombres moyens d'allèles par locus (nombre total d'allèles à chaque locus par le nombre total des locus dans chaque classe), et les proportions de locus hétérozygotes par individu (somme des proportions d'hétérozygotes à chaque locus par le nombre total de locus dans chaque classe). Pour l'ensemble de ces calculs, il est bien entendu tenu compte du fait que l'hémoglobine et la lactate déshydrogénase sont chacune codées par deux gènes.

Ce tableau permet de se rendre compte que la variabilité génétique montrée par les protéines du groupe I est beaucoup moins marquée que celle des groupes II et III. En particulier, la comparaison des paramètres concernant les protéines des groupes I et II montre que les valeurs passent pratiquement du simple au double lors du passage des enzymes «critiques» aux enzymes «périphériques».

Les enzymes du groupe I ont pour substrats une seule espèce de molécule provenant d'une réaction précédente à

l'intérieur de la même chaîne métabolique et variant sur le mode quantitatif, alors qu'il est vraisemblable que celles du groupe II (esters, alcools) varient qualitativement et sont issues de l'environnement extérieur. Ce sont des considérations de ce genre qui ont amené les auteurs à admettre que des mécanismes tels que l'équilibre mutation-sélection et l'avantage de l'hétérozygote étaient responsables du maintien du polymorphisme des enzymes du premier groupe, alors que les sélections dépendantes de la fréquence et diversifiantes intervenaient pour ceux du second.

Outre les cas des diverses espèces de drosophile déjà cités, cette dissemblance marquée dans l'importance de l'étendue du polymorphisme des deux classes d'enzymes a été également retrouvée chez la souris⁹ et chez l'homme¹⁰. La présente étude montre que, chez au moins une espèce d'oiseau, il en est également de même.

Summary. The polymorphism observed among the enzymes involved in the respiratory metabolism (lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase, phosphoglucumutase, phosphohexoseisomerase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase fructose 1-6 diphosphate dehydrogenase) is less important than that of the enzymes physiologically less essential, such as the various esterases, the alkaline phosphatase, the alcohol dehydrogenase, and of the non-enzymatic proteins (ovalbumin, ovoglobulins, ovomucoid, conalbumin, transferrin, etc.).

G. LUCOTTE et MARIE KAMINSKI

Laboratoire d'Enzymologie, Centre National de la Recherche Scientifique, F-91190 Gif-sur-Yvette (France), 13 mars 1975.

⁹ R. K. SELANDER et S. Y. YANG, *Genetics* 63, 653 (1969).

¹⁰ P. T. W. COHEN, G. S. OMENN, A. G. MOTULSKY, S. H. CHEN et E. R. GIBLETT, *Nature*, Lond. 241, 229 (1973).

Bostrycin, a Tetrahydroanthraquinone Pigment and Some Other Metabolites from the Fungus *Arthrinium phaeospermum*

A particular strain of *Arthrinium phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis CBS 142.55 (= the type culture of *Botryocomis sanguinea* Tubaki) secretes a dark red pigment into the growth medium. This red colour was investigated.

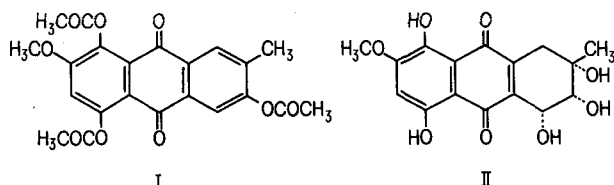
The fungus was grown on malt extract agar in culture tubes for 11 days at 24°C. The cultures were extracted with ethylacetate. After evaporation of the solvent the residue (180 mg/10 tubes) was treated with light petro-

leum bp 40-60°C for removal of fatty material and ether for extraction of pigments.

The ether extract was evaporated to dryness and the residue (118 mg) chromatographed on preparative silica gel layers using the solvent system benzene/dioxane/acetic acid (90:25:4, v/v/v). After elution from the plates the compound was obtained as red crystals (wings) by slow evaporation of an ether solution of the pigment.

The pigment in ethanol showed an absorption spectrum characteristic for a naphthazarine (5,8-dihydroxynaphthoquinone)-type compound. The absorption of the CO groups in the IR-spectrum (1600 cm^{-1}) was in agreement with this finding.

Acetylation of the pigment with acetic anhydride and a trace of concentrated H_2SO_4 yielded several acetates. The main product obtained in a pure state was not characterized as a naphthoquinone derivative but as an anthraquinone triacetate by means of mass spectroscopic and spectrophotometric analysis. The substance with molecular formula $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_9$ showed physico-chemical properties similar to the so-called compound VII (I) described by NODA et al.¹ The identity was confirmed by exact comparison of the IR-spectrum of our product with that of compound VII². Compound VII is one of the products obtained by NODA and his co-workers as a derivative of bostrycin, a tetrahydroanthraquinone pigment (II) produced by the fungus *Bostrychonema alpestre* Ces. and it was thought that the *Arthrimum* pigment might be identical with bostrycin. The identity was established by direct comparison with authentic bostrycin. The *Arthrimum* pigment showed complete agreement in all respects (MS, UV-vis., IR, TLC). The molecular structure of bostrycin shows that it can be dehydrated easily. Conc. H_2SO_4 was the dehydrating agent in the acetylation reaction indicated above.



The fungus forms some minor yellow and red pigments, which were not investigated. Some other metabolites isolated and identified by comparison with authentic samples were ergosterol and succinic acid. A metabolic compound detected on silica gel F_{254} thin layers as a dark spot in short wave UV-light and giving coloured spots by spraying with phenolic reagents³ was also formed. The amount isolated was too small for complete characterization. Mass spectrometry revealed a molecular formula of $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5$. Other physico-chemical data are shown below.

The strain labelled as *Bostrychonema alpestre*⁴ did not produce conidia. The original specimen appeared too scanty for recognition. The systematic position of the genus *Bostrychonema* Ces. is still problematic. Since no

type material is available and the original description is too vague, the genus should be regarded as doubtful. It was not possible to compare the relationship of *A. phaeospermum* with *B. alpestre*⁵.

Physico-chemical data⁶. Anthraquinone derivative (I): m.p. $239\text{--}240^\circ\text{C}$. mol. wt. 426.09700, calc. for $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_9$ 426.095077. ν_{max} (KBr) 1775, 1765, 1672, 1660, 1595, 1580, 1370, 1350, 1290, 1210, 1192, 1180, 1090, 1018, 975, 892, 786 cm^{-1} . Bostrycin, (II): subl. at 200°C , no exact m.p. due to sintering. MS: m/e 336 (M^+ , $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_8$). λ_{max} (EtOH): 228 (log ϵ 4.42), 301 (3.87), 480 sh (3.74), 506 (3.81), 541 (3.64). ν_{max} (KBr): 3490, 3390, 1600 cm^{-1} . Phenolic compound: mol. wt. 316.1299, calc. for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5$ 316.1310. $\text{M}-\text{C}_7\text{H}_{11}$: 221.0451, calc. for $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_6$ 221.0450. M^* 186.46: transition $221^+ \rightarrow 203^+ + 18 (\text{H}_2\text{O})$. λ_{max} (Ether): 224, 241, 295, 336 nm; λ_{max} (EtOH): 224 sh, 242 sh, 301, 330 sh nm; λ_{max} (EtOH/KOH): 253, 366 nm; ν_{max} (KBr) 3390 br, 3010, 2960, 2930, 2880, 2860, 1712, 1620, 1592, 1580 sh, 1571 sh, 1562 sh, 1438, 1290, 1195, 1180, 1158, 1142, 1082, 1040, 980, 938, 872, 858, 840, 765, 708 cm^{-1} .

Zusammenfassung. Als Hauptfarbstoffkomponente im Mycelium und Nährmedium eines Stammes des Schimmelpilzes *Arthrimum phaeospermum* wurde Bostrycin, ein Tetrahydroanthrachinon-Pigment isoliert und durch Vergleich mit der authentischen Substanz identifiziert. Dieser Pilz produziert auch Ergosterol, Bernsteinsäure und eine phenolische Verbindung $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5$.

G. W. VAN EIJK⁷

Centraalbureau voor Schimmelcultures,
Oosterstraat 1, Baarn
(The Netherlands), 14 February 1975.

¹ T. NODA, T. TAKE, T. WATANABE and J. ABE, *Tetrahedron* 26, 1339 (1970).

² We thank Dr. T. NODA for sending the IR-spectrum of compound VII and for a gift of bostrycin.

³ K. RANDEKATH, *Thin-layer Chromatography*, 2nd edn. (Verlag Chemie, Weinheim 1966), p. 208.

⁴ Thanks are due to Dr. M. TAKADA, Toyo Jozo Co., Japan for providing the M 1154 strain of *Bostrychonema alpestre* and the original specimen.

⁵ We are grateful to Dr. W. GAMS and Dr. R. A. SAMSON of our institute for examining the fungi.

⁶ The technical assistance of Mr. H. J. ROEYMANS is gratefully acknowledged.

⁷ The author is indebted to Dr. W. HEERMA and Mr. C. VERSLUYS, Analytical Laboratory, State University of Utrecht, for measuring the mass spectra.

Hairless Mice, Human Leprosy and Thymus-derived-Lymphocytes

It is generally believed that lepromatous leprosy patients have a nonspecific impairment of cell-mediated immunity. The mediators of cellular immune response are the thymus-derived (T) lymphocytes, as opposed to bone marrow-derived (B) lymphocytes, which are the mediators of humoral immunity. Recently two groups of workers reported a significant decrease of T-cell populations in lepromatous patients and a concomitant increase in B-lymphocytes^{1,2}. Other workers were unable to corroborate these observations³. In 'normal' mice, multiplication of *Mycobacterium leprae* is restricted to the footpads⁴. The infection which develops approximately 6 months after

inoculating the mouse footpads with *M. leprae*, does not spread to other tissues in the animal. In neonatally thymectomized X-irradiated mice, i.v. inoculation with *M. leprae* has been reported to result in generalized

¹ K. J. GAJL-PEEZALSKA, S. D. LIM, R. R. JACOBSEN and R. A. GOOD, *New Engl. J. Med.* 288, 1033 (1973).

² J. M. DWYER, W. E. BULLOCK and J. P. FIELDS, *New Engl. J. Med.* 288, 1036 (1973).

³ T. REA, K. NIES, F. QUISMORIO, E. LASAROW, J. BROWN, N. LEVAN and G. FRIO, *Clin. Res.* 32, 332A (1974).

⁴ C. C. SHEPARD, *J. exp. Med.* 112, 445 (1960).