

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

UMBERTO FERRINI, HARRY MANELLI

**Sulla presenza di cisteina nel materiale corticale  
distaccato con Urea dalle uova di *Paracentrotus  
lividus* e di *Sphaerechinus granularis***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.1-2, p.  
110–112.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1968\\_8\\_45\\_1-2\\_110\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_1-2_110_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Biologia.** — *Sulla presenza di cisteina nel materiale corticale distaccato con Urea dalle uova di Paracentrotus lividus e di Sphaerechinus granularis* (\*). Nota (\*\*) di UMBERTO FERRINI (\*\*\*) e HARRY MANELLI (\*\*\*\*), presentata dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — Treatment of the eggs of *Paracentrotus lividus* and *Sphaerechinus granularis* with urea 1 molar for 10', split off a cortical material containing a large proportion of incorporated Mersalyl·Hg<sup>203</sup>. Chromatographic analysis of this material reveals the presence of a rather large quantity of half-cystine. The appearance of CM-cysteine in samples treated with iodoacetate and iodacetamide demonstrates the presence of free SH-groups, able to interact with Hg<sup>203</sup>.

Vari autori (Sugiyama, 1951; Aketa, 1966, 1967; Runnström e Contoli, 1968; etc.) hanno già impiegato l'urea, a bassa concentrazione, per lo studio degli strati superficiali dell'uovo di riccio di mare.

Nel corso delle nostre ricerche sulla polispermia da mercuriali, si è osservato che il trattamento con urea 1 M distacca dalle uova di riccio di mare una notevole percentuale di Mersalyl·Hg<sup>203</sup>, previamente incorporato (oltre l'80 %). Si è pertanto sospettato che nel materiale corticale distaccato dall'urea sia presente la maggior parte dei gruppi tiolici combinati con l'Hg. Per confermare tale supposizione è stata eseguita un'analisi cromatografica degli aminoacidi presenti nel materiale corticale distaccato dall'urea. Le uova di *Paracentrotus lividus* e di *Sphaerechinus granularis*, provenienti da più femmine, sono state private del jelly-coat per filtrazione, più volte ripetuta, attraverso un setaccio di seta (16 mesh.). Si è attuato questo procedimento per eliminare la contribuzione degli aminoacidi totali, presenti nel jelly-coat, dove peraltro, la concentrazione della cisteina è insignificante (Ferrini e Manelli, 1968). Successivamente, dopo decantazione, è stata sostituita all'acqua di mare una soluzione di urea 1 M, tamponata con Tris—HCl 5·10<sup>-2</sup> M a pH 8.1. Dopo 10 minuti, avvenuto la deposizione al fondo delle uova, si è raccolto il sopranatante, che, dopo filtrazione, è stato dializzato contro acqua distillata e successivamente liofilizzato. Una aliquota del liofilizzato è stata poi idrolizzata con HCl 6 N a 110°, per trenta ore, sotto vuoto. Una volta essiccato, il materiale è stato ridisciolto in acqua, centrifugato — onde eliminare i depositi uminici — indi alcalinizzato a freddo con NaOH 0,1 N finale:

(\*) Ricerche eseguite con i fondi del C.N.R., nell'ambito del gruppo di ricerca per l'Embriologia per lo studio del differenziamento.

(\*\*) Pervenuta all'Accademia l'1 agosto 1968.

(\*\*\*) Laboratorio di Biofisica dell'Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori, Roma.

(\*\*\*\*) Istituto di Zoologia dell'Università di Roma, diretto dal prof. P. Pasquini.

si è così formato un precipitato fioccoso, che è stato allontanato per centrifugazione. Il tracciato cromatografico (fig. 1) mette in evidenza una cospicua percentuale di cisteina, sotto forma di mesocisteina. Sono inoltre presenti (Tabella I), oltre ai più comuni aminoacidi, tracce di glucosamina e galattosamina, sulfossidi della metionina e isoalloleucina. Per poter valutare il rapporto cisteina/cistina, è stata trattata una aliquota del materiale per 1 ora, a 20°, con iodoacetato e iodoacetamide in presenza di urea 1 M, a pH 7.

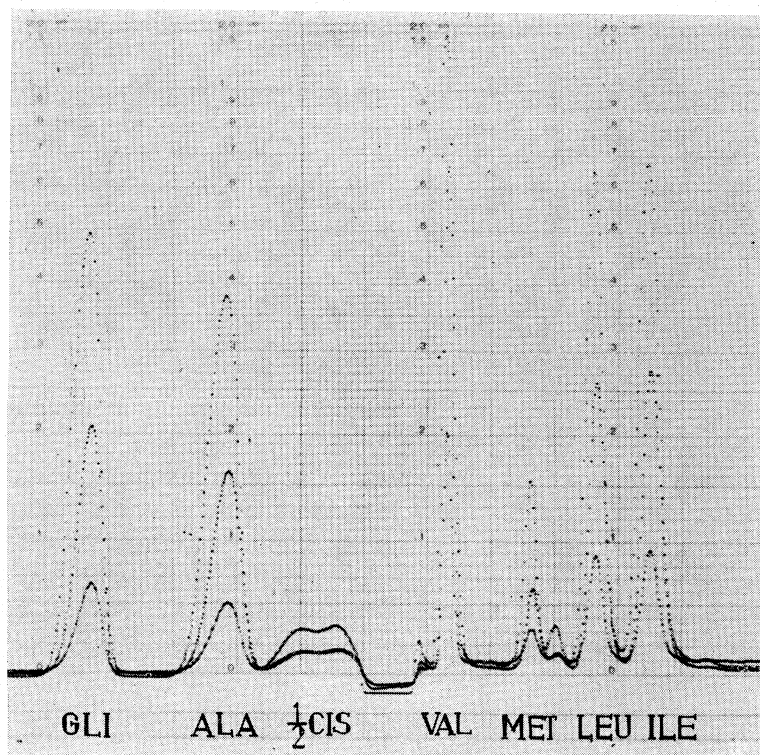


Fig. 1. - Cromatogramma parziale dell'analisi degli aminoacidi presenti nel materiale distaccato dall'uovo di *Paracentrotus lividus* con urea 1 M. La quantità di 1/2 cistina presente è pari al 2,77% del totale degli aminoacidi.

Dopo aver allontanato per dialisi l'eccesso dei reattivi, il materiale è stato idrolizzato secondo la tecnica sopradescritta. Con l'analisi cromatografica si è osservata la diminuzione del picco della mesocisteina e la comparsa concomitante di CM-cisteina. Il rapporto fra forma ossidata e ridotta non è però ancora ben definibile, perché l'idrolisi acida per 30 ore determina una distruzione parziale di alcuni residui di aminoacidi, ivi inclusa la 1/2 cistina. Tale fatto è probabilmente causato dai carboidrati presenti nel materiale corticale. Sono perciò in corso delle analisi cromatografiche a tempi differenti di idrolisi.

TABELLA I.

Lisina . . . . .	4,04	Alanina . . . . .	4,98
Istidina . . . . .	1,67	1/2 Cistina . . . . .	2,77
Arginina . . . . .	5,16	Valina . . . . .	6,78
Ac. aspartico . . . . .	14,00	Metionina . . . . .	1,21
Treonina . . . . .	6,10	Isoleucina . . . . .	6,18
Serina . . . . .	3,28	Leucina . . . . .	7,42
Ac. Glutammico . . . . .	13,97	Tirosina . . . . .	4,15
Prolina . . . . .	7,28	Fenilalanina . . . . .	6,56
Glicina . . . . .	4,70		100,20

Residui di aminoacidi in 100g di proteine presenti nel materiale corticale distaccato dall'area I M dalle uova di *Paracentrotus lividus*.

Dai risultati di queste analisi si ha la conferma diretta della presenza dei gruppi sulfidrilici negli strati corticali dell'uovo di riccio di mare, presenza del resto già sostenuta dagli esperimenti d'incorporazione compiuti con il Mersalyl·Hg<sup>203</sup> (Manelli e Ferrini, 1967 e 1968; Ferrini e Manelli, 1967 e 1968).

Naturalmente, si pone ora il problema d'individuare e caratterizzare le proteine a cui appartengono questi gruppi sulfidrilici e di precisare il ruolo e la funzione che essi svolgono nei meccanismi della fecondazione e della difesa contro la polispermia.

## BIBLIOGRAFIA.

- AKETA K., « Jap. Jour. Exptl. Morphol. », 20, 123 (1966).  
 AKETA K., « Embryologia », 9, 238 (1967).  
 FERRINI U. e MANELLI H., « Ist. Lombardo Rend. Sci. », 101, 204 (1967); 102 (in stampa), 1968.  
 MANELLI H. e FERRINI U., « Ist. Lombardo Rend. Sci. », 101, 191 (1967); 102 (in stampa), 1968.  
 RUNNSTRÖM J. e CONTOLI L. (in stampa).  
 SUGIYAMA M., « Biol. Bull. », 101, 335 (1951).