

## LA COMPOSITION ENZYMATIQUE DE FRAGMENTS NUCLÉÉS ET ANUCLÉÉS D'AMIBES

par

J. BRACHET

*Laboratoire de Morphologie animale, Université libre de Bruxelles (Belgique)*

Nous avons montré précédemment<sup>1</sup> que l'ablation du noyau conduit, chez l'amibe, à une accélération et à une intensification de l'attaque des protéines: leur utilisation débute, dans les fragments anucléés, dès le 3<sup>e</sup> jour après l'opération (au lieu du 6<sup>e</sup>); elle atteint, au 10<sup>e</sup> jour, 46% contre 19% seulement dans les fragments nucléés.

Afin de rechercher si l'élimination du noyau entraîne une disparition simultanée de toutes les protéines à la même vitesse, l'étude de la composition enzymatique des deux types de fragments a été entreprise chez l'amibe: les résultats obtenus par URBANI<sup>2,3</sup>, dans ce laboratoire, ont montré que l'activité enzymatique de la protéase et celle de l'amylase ne s'abaissent pas sensiblement dans les fragments anucléés, même 10 jours après l'énucléation. Par contre, la dipeptidase voit son activité baisser de moitié au cours des 3 jours qui suivent l'opération, pour demeurer ensuite constante.

Des essais ultérieurs ne nous ont donné que des résultats négatifs en ce qui concerne la phosphorylase, l'hexokinase, la phosphatase alcaline, l'adénosine désaminase et la guanase: ces enzymes sont absents ou ils se trouvent en quantités trop faibles pour être dosables chez l'amibe.

Par contre, nous avons pu ajouter à la liste des enzymes étudiés par URBANI<sup>2,3</sup> l'adénosinetriphosphatase, la phosphatase acide, l'énolase et l'estérase. Les deux premiers ont été dosés par des méthodes dérivant de celle de KRUGELIS<sup>4</sup>; l'énolase a été suivie par une ultramicro-adaptation de la méthode de LOHMANN ET MEYERHOF<sup>5</sup> et l'estérase par la technique de GLICK<sup>6</sup>.

L'adénosinetriphosphatase et l'énolase se comportent comme la protéase et l'amylase: leur activité n'est nullement influencée par l'ablation du noyau. Au contraire, la phosphatase acide et l'estérase manifestent des changements spectaculaires: l'activité enzymatique se met rapidement à baisser, dans les fragments anucléés, et la chute est si considérable qu'on ne décale plus au bout de 10 à 12 jours, que 20 à 30% de l'activité initiale.

La figure 1 montre, de façon schématique, les changements que subit, au cours du temps, le rapport  $A/N$  entre les activités enzymatiques des deux types de fragments; comme les moitiés nucléées ( $N$ ) conservent, grosso modo, leur activité enzymatique intacte au cours du jeûne, les courbes tracées représentent, en somme, le comportement des fragments anucléés ( $A$ ).

Il est donc désormais hors de doute que différentes protéines cytoplasmiques se trouvent placées à des degrés très inégaux sous le contrôle du noyau: certaines se maintiennent parfaitement dans le cytoplasme anucléé, d'autres en disparaissent presque complètement.

Il est vraisemblable que le contrôle exercé par le noyau sur les divers enzymes dépend de leur *localisation intracellulaire*: l'amylase et la protéase (HOLTER ET LÖVTRUP<sup>7</sup>, HOLTER ET POLLOCK<sup>8</sup>) se trouvent, chez l'amibe, liées à de gros granules comparables aux mitochondries; la dipeptidase (HOLTER ET LÖVTRUP<sup>7</sup>) serait, au contraire, à l'état diffus. La localisation, chez l'amibe, des autres enzymes étudiés demeure inconnue; mais on ne peut manquer d'être frappé du fait que, chez les Mammifères, l'adénosinetriphosphatase se rencontre en abondance dans les mitochondries (SCHNEIDER<sup>9</sup>) tandis que l'estérase (OMACHI *et al.*<sup>10</sup>) et la phosphatase acide (NOVIKOFF *et al.*<sup>11</sup>, STRAUS<sup>12</sup>) sont accumulées dans les microsomes ou des granules qui leur ressemblent.

Tout se passe donc comme si les mitochondries se trouvaient largement indépendantes du noyau en ce qui concerne leur activité et leur maintien; les microsomes, au contraire, seraient placés sous un contrôle nucléaire étroit. Une telle conclusion cadre parfaitement avec les résultats que nous

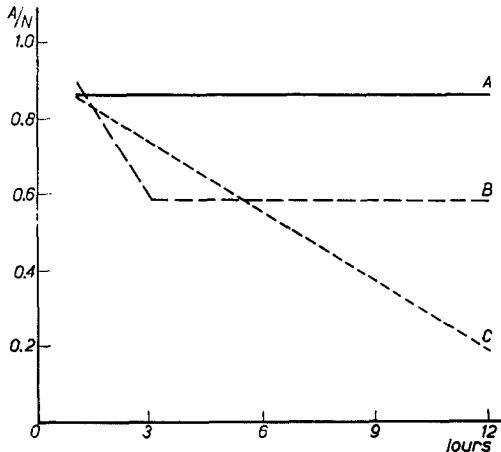


Fig. 1. A: amylase, protéase, adénosinetriphosphatase et énolase; B: Dipeptidase; C: estérase et phosphatase acide.

avons obtenus antérieurement en étudiant la consommation d'oxygène<sup>1</sup> et la teneur en acide ribonucléique de fragments d'amibes (LINET ET BRACHET<sup>13</sup>).

### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> J. BRACHET, *Nature*, 168 (1951) 205.
- <sup>2</sup> E. URBANI, *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 109.
- <sup>3</sup> E. URBANI, *Arch. Intern. Physiol.*, 60 (1952) 189.
- <sup>4</sup> E. J. KRUGELIS, *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg*, 27 (1950) 273.
- <sup>5</sup> K. LOHmann ET O. MEYERHOF, *Biochem. Z.*, 273 (1934) 60.
- <sup>6</sup> D. GLICK, *Z. physiol. Chem.*, 223 (1934) 252.
- <sup>7</sup> H. HOLTER ET S. LÖVRUP, *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg*, 27 (1949) 27.
- <sup>8</sup> H. HOLTER ET B. POLLOCK, *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg*, 28 (1952) 221.
- <sup>9</sup> W. C. SCHNEIDER, *Cancer Research*, 6 (1946) 685.
- <sup>10</sup> A. OMACHI, C. P. BARNUM ET D. GLICK, *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.*, 67 (1948) 133.
- <sup>11</sup> A. NOVIKOFF, E. PODDER, J. RYAN ET E. NOE, *J. Histochem. Cytochem.*, 1 (1953) 27.
- <sup>12</sup> W. STRAUS, *J. Biol. Chem.*, 207 (1954) 745.
- <sup>13</sup> N. LINET ET J. BRACHET, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 607.

Reçu le 12 mai 1954

### ACETYLATED SUDAN BLACK B AS A REAGENT FOR LIPIDS

by

W. G. BRUCE CASSELMAN\*

*Cytological Laboratory, Department of Zoology and Comparative Anatomy,  
University Museum, Oxford (England)*

Acetylated Sudan black B has been found useful for localizing lipids in spot tests or paper chromatograms. It might also find application in paper electrophoresis. The acetylated derivative is more specific for lipids than the parent dye. It was introduced as a histochemical reagent by LILLIE AND BURTNER<sup>1</sup> and has been further studied in this regard by CASSELMAN<sup>2</sup>. The acetylation of Sudan black B can be carried out in pyridine using a large excess of acetic anhydride<sup>1</sup> but considerable decomposition usually occurs. When only an equivalent of acetic anhydride is used with diethyl ether as the inert solvent<sup>3</sup>, decomposition is negligible and the product colours lipids intensely<sup>2</sup>. For the demonstration of lipids in spot tests<sup>4</sup> or on paper chromatograms<sup>5,6</sup>, the acetylated Sudan black B may be applied as a saturated solution in 70% ethanol or in ethylene or propylene glycol. Although they may be less convenient to use because they are more viscous, the glycol solutions of the reagent offer certain advantages. There is no risk of extracting traces of lipids soluble in ethanol. Acetylated Sudan black B, like the parent dye, is more stable in the glycols than in ethanol. Dye precipitation due to solvent evaporation practically does not occur.

### REFERENCES

- <sup>1</sup> R. D. LILLIE AND H. J. BURTNER, *J. Histochem.*, 1 (1953) 8.
- <sup>2</sup> W. G. B. CASSELMAN, *Quart. J. micr. Sci.* (in press).
- <sup>3</sup> K. KAUFMANN, *Ber.*, 42 (1909) 3481.
- <sup>4</sup> M. H. HACK, *Biochem. J.*, 54 (1953) 602.
- <sup>5</sup> J. BOLDINGH, *Experientia*, 4 (1948) 270.
- <sup>6</sup> R. J. BLOCK, *Paper Chromatography*, Academic Press, New York 1952.

Received May 24th, 1954

\* Merck Postdoctoral Fellow in the Natural Sciences of the National Research Council of Canada. Permanent address: The Banting and Best Department of Medical Research, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada.